

**Alterskorrelierte Kontraktilität
humaner retinaler Arteriolen
bei 100 % Sauerstoffatmung**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät

der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Constance Scherf

geboren am 10.09.1974 in Bad Salzungen

24. August 2004

Erster Gutachter: Privatdozent Dr. med. M. Blum, Erfurt
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. med. J. Strobel, Jena
Dritter Gutachter: Prof. Dr. med. W. Behrens-Baumann, Magdeburg

Tag der öffentlichen Verteidigung: Jena, den 5. April 2005

1. Abkürzungsverzeichnis

atm	physikalische Atmosphäre, veraltete Einheit des Drucks
CCD	charge-coupled-device
CO ₂	Kohlendioxid
dia	diastolisch
EKG	Elektrokardiogramm
g	Gramm
HRF	Heidelberger-Retinal-Flowmeter
IOD	intraokulare Druck
l	Länge
LDF	Laser-Doppler-Flowmetrie
LDV	Laser-Doppler-Velocimetrie
m	männlich
MAP	mittlerer arterieller Druck
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
µm	Mikrometer
nm	Nanometer
N	Stickstoff
NO	Stickoxid
O ₂	Sauerstoff
OBF	Langham-Ocular-Blood-Flowmeter
OODG	Okulo-Oszillo-Dynamografie
π	Ludolphe Zahl, mathematische Konstante, $\pi \sim 3,142$
P	Partialdruck
PC	personal computer
ΔP	Druckdifferenz
r	Radius, Gefäßradius
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

RR	Blutdruck
RVA	Retinal Vessel Analyzer
s	Sekunde
SLO	Scanning-Laser-Ophthalmoskopie
sys	systolisch
V	Flussstromstärke, Durchblutung
VHS	video home system
w	weiblich
η	Viskosität der Flüssigkeit

2. Inhaltsverzeichnis

3. Zusammenfassung	7
4. Einleitung	9
4.1. Das Gefäßsystem des Auges	11
4.2. Die Autoregulation der arteriellen Gefäße	15
4.3. Bisherige Untersuchungen zur Autoregulation am Auge	17
4.4. Die Gefäßveränderungen im Alter	18
5. Ziele der Arbeit	20
6. Methodik eigener Untersuchungen	21
6.1. Geräteaufbau des „Retinal Vessel Analyzer“ (RVA)	21
6.2. Probanden	24
6.3. Versuchsprotokoll	25
6.4. Statistische Auswertung	26
7. Ergebnisse	27
7.1. Aufteilung der Probanden in die Einzelgruppen	27
7.2. Die Gefäßreaktion nach 100 % Sauerstoffatmung in den Einzelgruppen	29
7.3. Der Einfluss des Alters auf die Gefäßkontraktilität nach 100 % Sauerstoffatmung	33
8. Diskussion	36
8.1. Untersuchungstechniken zur Messung der retinalen Mikrozirkulation	36
8.1.1. Messung der Gefäßweite an Fundusfotografien durch Mikrometrie und Densitometrie	37
8.1.2. Die Fluoreszenzangiografie	38

8.1.3. Messung des Blutflusses und der Blutflussgeschwindigkeit mit der Laser-Doppler-Technik	40
8.1.4. Farbduplexsonografie	43
8.1.5. Langham „Okular-Blood-Flow (OBF)-System“	44
8.1.6. Okulo-Oszillo-Dynamographie (OODG)	45
8.1.7. „Blue field entopic“-Simulationstechnik	45
8.1.8. Der Retinal Vessel Analyzer (RVA)	46
8.2. Einflussgrößen auf die Messung der Autoregulation mit dem RVA und Provokationsfaktoren	48
8.2.1. Die Atemgasinhalation als Provokationsverfahren zur Messung der Autoregulation retinaler Gefäße	53
8.3. Steuerungsmechanismen der retinalen Autoregulation	56
 9. Schlussfolgerungen	 58
 10. Literatur- und Quellenverzeichnis	 59
 11. Anhang	 72

3. Zusammenfassung

Der Retinal Vessel Analyzer ist ein Gerät zur direkten „online“ - Vermessung retinaler Gefäße, welche nichtinvasiv und in vivo, d. h. mit minimaler Belastung für den Menschen durchgeführt werden kann. Um den RVA auch klinisch einsetzen zu können, sind Provokationsverfahren notwendig, die Veränderungen der Netzhautgefäßweite hervorrufen und somit eine Aussage über die Regulationskapazität dieser Gefäße erteilen können.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Einatmung von 100% Sauerstoff als nichtinvasives Provokationsverfahren eingesetzt, um die Kontraktilität von retinalen Arteriolen zu erfassen und erstmals an gesunden Probanden eine alterskorrelierte Normwertkurve zu erstellen.

Nach Applikation eines Mydriatikums zur Erweiterung der Pupille erfolgte mittels Retinal Vessel Analyzer (RVA) die Messung einer Netzhautarteriole bei insgesamt 32 Probanden.

Zu Beginn wurde über 3 Minuten bei Raumluft und anschließend kontinuierlich über 10 Minuten gemessen, wobei sich die Provokationsphase mit Inhalation von 100% Sauerstoff über insgesamt 5 Minuten erstreckte. Danach wurde eine Nachmessung der Arteriolen über 4 Minuten bei Raumluft durchgeführt. Die Probanden wurden in vier Gruppen eingeteilt, die jeweils eine Lebensdekade umfassten. Der statistische Vergleich zwischen den 4 Altersgruppen erfolgte mit dem Mann-Whitney-Test. Die Korrelation der Gefäßreaktion zum Alter wurde mit dem linearen Korrelationskoeffizienten nach Pearson überprüft.

Nach Provokation durch Inhalation von 100% Sauerstoff wurde bei allen Probanden, bis auf eine Ausnahme, eine Vasokonstriktion mit Maximum in der 4. oder 5. Minute nachgewiesen. Der Vergleich der Altersgruppen ergab eine signifikante alterskorrelierte Abnahme der Kontraktilität der retinalen

Arteriolen. Der Korrelationskoeffizient nach Pearson zwischen Vasokonstriktion und Alter beträgt 0,73.

Mit der Entwicklung des Retinal Vessel Analyzer steht erstmals ein nichtinvasives Gerät für die Vermessung von retinalen Gefäßdurchmessern zur Verfügung. Mit der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Provokation mit Sauerstoffatmung zur Untersuchung der autoregulatorischen Fähigkeiten der Netzhautgefäße ein unkompliziertes und zuverlässiges Verfahren mit minimaler Belastung für den Probanden ist. Es zeigte sich jedoch eine Abnahme der gemessenen Vasokonstriktion der Netzhautarteriolen mit fortschreitenden Alter, so dass die erhobene alterskorrelierte Normwertkurve bei klinischen Einsatz des Gerätes (z. B. zur Untersuchung der retinalen Gefäße im Rahmen der Diagnostik und Verlaufskontrolle des Diabetes mellitus oder Arteriellen Hypertonus) unbedingt berücksichtigt werden muss.

4. Einleitung

Das Auge als wichtigster Fernsinn des Menschen nimmt mehr als 80 % aller Informationen auf (Sachsenweger 1994).

Das visuelle System (Sehorgan) besteht aus fünf funktionellen Systemen:

1) dem Akkommodationsapparat mit Linse und Ziliarmuskulatur, 2) dem Blendenapparat bestehend aus der Iris, 3) dem Bewegungsapparat durch Sklera und Augenmuskulatur, 4) dem Lid- und Tränenapparat und dem 5) neuronalen Apparat, der durch die anatomischen Strukturen der Netzhaut, des Nervus opticus, des Tractus opticus und der Sehrinde in der Area 17 und den benachbarten Areae 18 und 19 des Gehirns die visuelle Rezeption darstellt (Rohen 1964).

Das Auge ist das Rezeptororgan des visuellen Systems und besitzt zwei funktionell sehr verschiedene und anatomisch getrennte Gefäßsysteme. Die Ernährung der Neurone der Netzhaut erfolgt somit von zwei Seiten, außen vom Kapillarsystem der Ziliararterien, der Aderhaut (Choroidocapillaris), und innen von den Aufzweigungen der A. centralis retinae, welche die Versorgung bis zur inneren Körnerschicht gewährleistet (Frick et al. 1987).

Seit der Erfindung des direkten Ophthalmoskops durch Hermann von Helmholtz ermöglichen die Netzhautgefäße als einziges Gefäßsystem des Menschen 1850 die Untersuchung der menschlichen Mikrozirkulation in vivo.

Der Versuch Teile der Netzhaut durch eine Fotografie darzustellen, wurde bereits 1887 gemacht (Howe 1887). 1915 wurde von Nordenson mit Unterstützung der Firma Zeiss eine erste funktionstüchtige Funduskamera hergestellt. Durch die Trennung eines Beleuchtungs- und eines Abbildungsstrahlenganges ist diese die Grundlage vieler aktuell verwendeten Geräte (Nordenson 1915). Als Standardverfahren zur Befunddokumentation dient die Fundusfotografie in zahlreichen wissenschaftlichen Studien unter anderen auch der Vermessung von Netzhautgefäßen.

Nachdem 1939 Sorsby erstmals versuchte, die Augenhintergrundgefäße durch Verwendung von Farbstoffen, zum Beispiel mit Fluoreszein besser darzustellen (Sorsby 1939), konnte sich 1961 durch Novotny und Alvis die Fluoreszeinfundusfotografie durchsetzen (Novotny und Alvis 1961).

Jedoch ist dieses Verfahren, auch durch Verbesserung der zeitlichen und räumlichen Auflösung in den vergangenen 30 Jahren, z. B. durch Kineangiografie und Videoangiografie, den invasiven Diagnostikmethoden zuzuordnen, da die intravenöse Applikation eines Farbstoffes notwendig ist und diese mit unerwünschten Nebenwirkungen behaftet sein kann.

Von 1992 bis 1996 wurde an der Augenklinik der Friedrich-Schiller-Universität Jena der „Retinal Vessel Analyzer“ (RVA) entwickelt, der es ermöglicht, online örtliche und zeitliche Veränderungen retinaler Gefäßdurchmesser nicht-invasiv und in vivo zu messen (Vilser et al 1996). Erstmals konnte damit die Autoregulation an retinalen Arteriolen des Menschen, in diesem Fall mit Messung der Vasokonstriktion als Antwort auf eine Blutdruckerhöhung („Bayliss-Effekt“), nachgewiesen werden (Blum et al 1999).

Um den „Retinal Vessel Analyzer“ auch in der klinischen Routine einzusetzen, sind Provokationstests notwendig, die Veränderungen der Hämodynamik auslösen und dem Untersucher somit eine Aussage über die Regulationskapazität dieser Gefäße bei einzelnen Krankheitsbildern erteilen.

Eine Möglichkeit sind Untersuchungen mit Einsatz von Atemgasgemischen in der Einatemluft. Sowohl für Carbogen- als auch für Sauerstoffatmung ist eine Reaktion der retinalen Gefäße mit Hilfe der Duplex- und Dopplersonografie nachgewiesen (Frayser und Hickham 1964, Deutsch et al. 1983, Riva et al. 1983, Schüttauf et al. 1998).

4.1. Das Gefäßsystem des Auges

Theodor Leber beschrieb bereits 1865 die grundlegende Anatomie der Augengefäße (Leber 1865).

Erst Anfang der 80er Jahre des letzten Jahrhunderts konnten wichtige Details durch die Rasterelektronenmikroskopie von Gefäßausgüssen durch Kunststoffe ergänzt werden (Matsuo 1973).

Bei den Menschen zweigt sich die Gefäßversorgung des Auges von der Arteria ophthalmica ab, die den ersten Ast der Arteria carotis interna darstellt und auch die Augenmuskeln, die Tränendrüse, Teile der Nasenhöhle und die Stirnhaut versorgt. Zwei verschiedene, anatomisch getrennte Gefäßsysteme sind für die Ernährung des Auges verantwortlich, einerseits das Gefäßsystem der Retina und andererseits das der Uvea (Gefäßhaut) (Leber 1903).

Die Trennung der beiden Gefäßsysteme erfolgt individuell variabel kurz hinter dem Augapfel aus der Arteria ophthalmica (Abbildung 1).

Die Uvea ist mesenchymalen Ursprungs und wird von den drei Abschnitten Iris, Ziliarkörper und Choroidea (Aderhaut) gebildet. Reich an Blutgefäßen ermöglicht die Uvea vor allem die Regulierung des Lichteinfalls (Blendenfunktion), die Akkomodation, Ernährung der äußeren Retina und die Produktion des Kammerwassers. Die Hauptfunktion der Choroidea ist der Schutz der Retina (Alm und Bill 1987). Das einzigartige Kapillarnetz der Choroidea, die so genannte Choriokapillaris, stellt einen „Blutschwamm“ mit dem größten Blutflussvolumen des Körpers dar und fungiert als Volumenpuffer zur Regulation des Augeninnendruckes (Funk 1995).

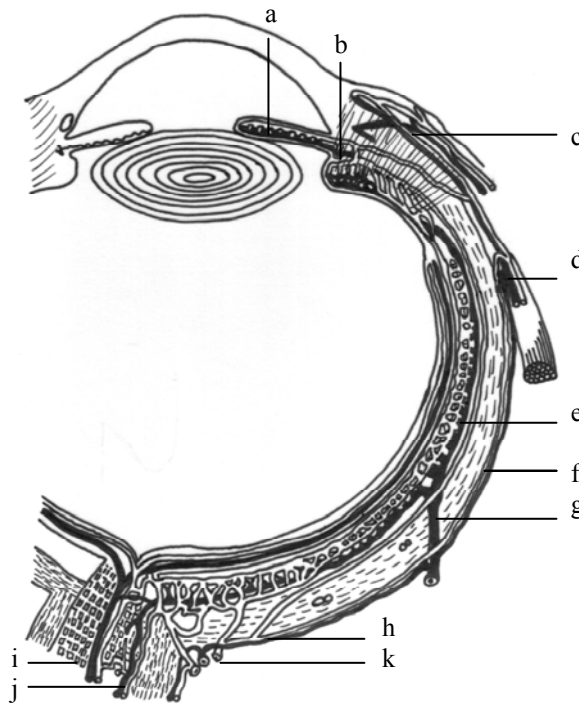


Abb. 1 – Blutversorgung des Auges (modifiziert nach Hansen)

a – Circulus arteriosus minor iridis, b – Circulus Arteriosus major iridis, c – Konjunktivalgefäße, d – vordere Ziliargefäße, e – Chorioidea, f – Skleragefäße, g – Vortexvene, h – lange hintere Ziliararterie, i – retinale Gefäße, j – Püagefäße, k – kurze hintere Ziliararterie

Da nur das retinale Gefäßsystem einer direkten Beobachtung zugänglich ist und auch in der vorliegenden Arbeit Grundlage der Versuche war, erfolgt nun eine genauere Darstellung dieses Gefäßsystems.

Die Gefäßversorgung der menschlichen Retina wird aus der Arteria centralis retinae gespeist, welche den ersten größeren Ast der Arteria ophtalmica darstellt. Sie tritt 10 bis 15 mm hinter dem Bulbus in den Stamm des Nervus opticus ein und teilt sich im Niveau der Papille in temporale und nasale Arterienäste, die in vivo ophtalmoskopisch gut sichtbar sind (Rohen 1964).

Die sekundären und tertiären Aufzweigungen jenseits des Sehnervs stellen Arteriolen dar, die im Gegensatz zu den Gefäßen der Uvea als Endarterien einzuordnen sind. In die Netzhautschichten tauchen die Arteriolen fast senkrecht ein und bilden mehrere Kapillarnetze, die bis an den Außenrand der inneren Körnerschicht heranreichen (Abbildung 2).

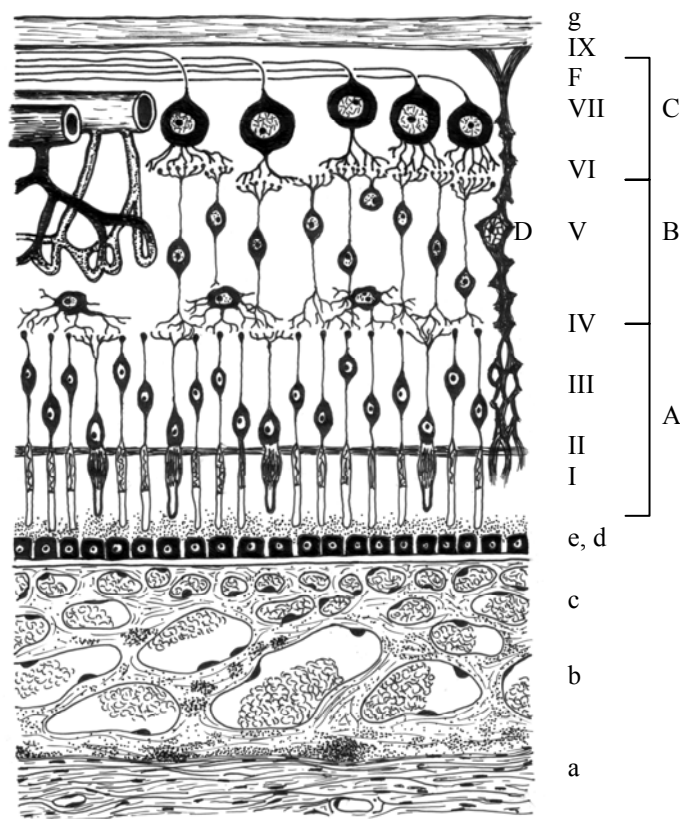


Abb. 2 – Netzhautschichten (modifiziert nach Nasemann)

I – Stäbchen und Zapfen, II – Membrana limitans externa, III – äußere Körnerschicht, IV – äußere retikuläre Schicht, V – innere Körnerschicht, von den Netzhautgefäßen ernährt, VI – innere retikuläre Schicht, VII – Ganglienzellschicht, VIII – Nervenfaserschicht, IX – Membrana limitans interna, a – Sklera, b – Lamina vasculosa chorioideae, c – Choriokapillaris, d – Lamina vitrea, e – Pigmentepithel, f – Netzhautgefäße und Kapillaren, g – Glaskörper, A – Neuroepithelschicht 1. Neuron, B – 2. Neuron, C – 3. Neuron, D - Stützfasern

Zur Peripherie hin nimmt die Kapillardichte ab. Im Bereich der Makula bilden die Kapillaren drei Kapillarschichten, in der Netzhaut außerhalb des

Makulagebietes bilden die Kapillaren zwei, in der peripheren Netzhaut nur eine Schicht (Naumann 1997).

Die Blutströmung in den sehr effizient autoregulierten Kapillaren ist mit 3,3 mm/s sehr schnell (Wolf et al. 1991).

Die Netzhautgefäße mit Gefäßdurchmessern zwischen 50 - 200 µm gehören per definitionem zur Mikrozirkulation (Gaethgens 1980).

Histologisch finden sich in den Netzhautkapillaren im Verhältnis 1:1 zwei Zelltypen, die Endothelzellen und die Perizyten (Kuwabara und Cogan 1963). Die Endothelzellauskleidung, welche die Basalmembran des Gefäßes bilden, ist im Gegensatz zu den Choriokapillargefäßen durch die so genannten Zonula occludentes nicht gefenstert (Naumann 1997). Es besteht dadurch ähnlich den Hirngefäßen keine oder nur eine geringe Permeabilität gegenüber Proteinen, Fluoreszein oder sogar Natriumionen (Alm und Bill 1987), so dass man ähnlich der „Blut-Hirn-Schranke“, von einer „Blut-Retina-Schranke“ gesprochen wird.

Die Perizyten liegen der Basalmembran der Endothelzellen diskontinuierlich außen auf und bilden eine äußere Begrenzung des Gefäßes (Ashton und de Oliveira 1966). Eine eigentliche Tunica elastica interna fehlt den Netzhautarterien, die Arterienwandung besitzt jedoch in der Regel eine 3-4 schichtige Tunica media aus Muskelzellen, die wie ein elastisches Fasernetz longitudinal und zirkulär angeordnet sind. Besonders die kleinen Netzhautarterien haben Lücken zwischen den Muskelzellen, so dass sie lediglich aus einem dünnen Mantel kollagenen und elastischen Bindegewebes bestehen (Meves 1948). Die Außenabgrenzung wird von einer dünnen Adventitia und einer Lamina gliae perivaskularis gebildet. Die sonst für die Mikrozirkulation typischen Sphinktere sind an Netzhautgefäßen nicht vorhanden.

Das retinale Gefäßsystem ab der Lamina cribrosa wird im Gegensatz zum Gefäßnetz der Uvea nicht durch das autonome Nervensystem innerviert (Laties 1967).

Der venöse Abstrom erfolgt aus den Kapillaren über Venolen in die 4 großen Vortexvenen, nachfolgend in die Vena ophtalmica superior und nach Vereinigung mit der Vena ophtalmica inferior letztendlich in den Sinus cavernosus.

4.2. Die Autoregulation der arteriellen Gefäße

Vereinfacht ausgedrückt ist die Autoregulation die weitgehende Konstanz der Durchblutung bei wechselnden Perfusionsdrücken (Kuschinsky 1992).

Sie bezeichnet die Fähigkeit eines Organs oder eines Gefäßbettes sich Blutdruck- oder Perfusionsdruckänderungen anzupassen und einen konstanten Blutfluss aufrecht zu erhalten, um damit einen gleich bleibenden Stoffwechsel zu gewährleisten. Als Steuerglieder der Autoregulation kommen unterschiedliche Mechanismen in Frage.

Es besteht eine Zusammenarbeit zwischen myogenen, das heißt über eine direkte Reaktion der Gefäßwand auf Blutdruckänderung und metabolischen Mechanismen. Als metabolische Steuerglieder sind vasoaktive Mediatoren und Moleküle, unter anderem neben Adenosin, Adeninnukleotiden, Kalium und Kalzium auch Sauerstoff und Kohlendioxid zu nennen. Jedoch auch der Einfluss perivaskulärer Nervenendigungen, die im Gefäßendothel gebildeten biochemischen Substanzen und zirkulierende Gewebshormone können eine Änderung der Gefäßweite bewirken (Paulson et al. 1990).

Die myogene Komponente der Autoregulation wird auch als „Bayliss- Effekt“ bezeichnet, der darin besteht, dass die glatte Muskulatur der Gefäße auf eine Zunahme des transmuralen Druckes mit einer Zunahme des Muskeltonus reagiert (Bayliss 1902).

Autoregulatorische Reaktionen lassen sich an Gefäßen der meisten Organe finden, wie Gehirn (Paulson et al. 1990), Herz, Niere (Gilmore et al. 1980), Skelettmuskel (Morff und Granger 1982), Leber und im Mesenterialkreislauf (Johnson 1968), nicht jedoch im Pulmonalkreislauf, da dies funktionsbedingte Variationen des Herzminutenvolumens erschweren würde (Kuschinsky 1992).

Die autoregulativen Reaktionen der Gefäßmuskulatur sind von der autonomen Innervation unabhängig und bleiben daher auch nach Ausschaltung der vasomotorischen Nerven erhalten (Bohr et al. 1980).

Die aufgeführten Mechanismen als Grundlage der Autoregulation verändern den Strömungswiderstand durch Veränderung des Gefäßradius.

Mit dem Hagen-Poiseuilleschen Gesetz, einer Erweiterung des Ohmschen Gesetzes, kann dies genauer erklärt werden.

$$V = \frac{\pi \cdot r^4}{8 \cdot \eta \cdot l} \Delta P$$

Damit hängt die Durchblutung (V = Stromstärke) ab von

- dem Druckgradienten ΔP , wobei l die Länge des Gefäßes bedeutet,
- der Viskosität η des Blutes,
- der Gefäßgeometrie - der Gefäßradius r wird damit zur entscheidenden Größe für die Durchblutung, da er in seiner vierten Potenz wirksam wird.

Da die Gefäßgebiete der Netzhaut zur Mikrozirkulation gehören, hat das Gesetz von Hagen-Poiseuille nur bedingt Gültigkeit. Empirisch wurde jedoch festgestellt, dass der Widerstand der kleinen Blutgefäße ebenfalls praktisch in der 4. Potenz vom Gefäßdurchmesser abhängig ist.

4.3. Bisherige Untersuchungen zur Autoregulation am Auge

Das uveale Gefäßsystem unterliegt aufgrund des enormen Blutflussvolumens der Choroidea (18 ml/min/g Gewebe), die auch als „Blutsee“ bezeichnet wird, im Gegensatz zum retinalen Gefäßsystem, nicht der Autoregulation (Funk 1995).

Im Gegensatz dazu sind die retinalen Gefäße jedoch aufgrund der hohen Blutflussgeschwindigkeit mit 3,3 mm/s (Wolf et al. 1991), der niedrigen Blutflussmenge von 0,5 bis 1,7 ml/min/g Gewebe (Hickam und Frayser 1966, Alm und Bill 1987) infolge der englumigen Kapillaren, der hohen arterio-venösen Sauerstoffdifferenz von 38 % (Hickam 1963) und damit verminderten Reservekapazität auf ein wirksames autoregulierendes System angewiesen.

Der Mechanismus der Autoregulation wurde in Studien zunächst an Versuchstieren, wie zum Beispiel an Katzen, Affen oder Kaninchen (Friedman et al. 1964) durch ein „Washout-Verfahren“ von markierten Stoffen (Bettmann und Fellows 1956), später durch die Methodik der radioaktiv markierten Mikrosphären (O'Day et al. 1971) nachgewiesen. Diese Untersuchungen konnten jedoch ausschließlich an Versuchstieren durchgeführt werden.

Am Menschen waren Studien zur Messung der Autoregulation lange Zeit nur durch invasive Methoden möglich.

Ein Fortschritt stellte die Laser-Doppler-Technik (Riva et al. 1986) dar, welche durch die direkte Messung der Geschwindigkeit des retinalen Blutflusses die Veränderung der Gefäßweite in Abhängigkeit veränderter physiologischer Bedingungen ermöglicht. Es ist jedoch mit dieser Technik nicht möglich, direkt den Gefäßdurchmesser der präkapillär gelegenen Arterien und Arteriolen als das eigentliche autoregulative Stellglied zu messen.

Die Untersuchungen an retinalen Gefäßdurchmessern waren durch Bearbeitungen von Fotografien mit Messung der Erythrozytensäule und durch

die Analyse der Bildsequenzen von Filmen oder Videos auf Momentaufnahmen beschränkt und waren zudem sehr zeitintensiv. Sie fanden keine Anwendung in der klinischen Routine.

Die Methode der Anfärbung des Gefäßlumens einschließlich des Plasmarandstromes mit Fluoreszein als Indikator unterlag großen Streuungen und den Limitierungen eines invasiven Verfahrens.

Von 1992 - 1996 wurde an der Augenklinik der Friedrich-Schiller-Universität Jena der „Retinal Vessel Analyzer“ (RVA) entwickelt, der es erstmals ermöglicht, online örtliche und zeitliche Veränderungen retinaler Gefäßdurchmesser nicht invasiv, in vivo und durch eine geringe Belastung zu messen (Vilser et al. 1996).

1999 konnte Blum et al. mit dem „Retinal Vessel Analyzer“ (RVA) den Bayliss-Effekt an retinalen Arteriolen des Menschen, in diesem Fall mit Messung der Vasokonstriktion als Antwort auf eine Blutdruckerhöhung, nachweisen (Blum et al. 1999).

4.4. Die Gefäßveränderungen im Alter

Beim Menschen unterliegen die Organe im Allgemeinen alterskorrelierten Funktionsveränderungen, die einerseits auf fortschreitende Strukturveränderungen der Zellen und des Gewebes und andererseits wahrscheinlich auch auf genetischen Faktoren beruhen. Die Funktionsfähigkeit des arteriellen Gefäßsystems im Alter wird vor allem durch die Abnahme der elastischen Eigenschaften, d. h. durch die Fragmentierung der elastischen Fasern und der glatten Muskulatur, die vermehrte Einlagerung von Kollagen und durch arteriosklerotische Veränderungen verschlechtert. Die arteriosklerotischen Gefäßveränderungen werden auf genetische und diätetische Faktoren sowie auf bestimmte Lebensgewohnheiten zurückgeführt und bilden die Grundlage für viele Alterserkrankungen, wie z. B. arterieller

Hypertonus, Thrombosen, Embolien und Infarkte. Durch die Abnahme der Wachstums- und Regenerationsfähigkeit, welche zu einer verminderten Ausbildung von Kollateralgefäßen führt und die Verringerung der Gefäßdichte im Gewebe wird die Versorgung der Organe weiter eingeschränkt.

Auch die Funktionsfähigkeit des Auges wird im Alter zunehmend beeinträchtigt. Im Bereich der Netzhaut kommt es zu einer fortschreitenden Degeneration des Pigmentepithels und zu einer Hyalinisierung der Bruch-Membran. Auch die Gefäße der Retina erfahren alterskorrelierte Veränderungen, die mit einer Verschlechterung der Mikrozirkulation einhergehen (Gaetgens 1994, Zahn 1990).

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war die altersabhängige Kontraktilität der Netzhautgefäße unter Provokation mit 100 % Sauerstoff zu messen.

5. Ziele der Arbeit

Bereits in der Vergangenheit wurden zur Messung der autoregulatorischen Fähigkeiten der Netzhautgefäße Provokationsmethoden in Form von Atemgasgemischen, insbesondere CO₂ entwickelt, welche z.B. in den letzten Jahren mit modernen Laser- Techniken als auch mit der Duplexsonografie angewandt wurden (Arend et al.1994, Harris et al. 1995, Riva et al 1983, Schüttauf et al. 1998). Durch die Einführung des „Retinal Vessel Analyzer“ steht erstmals eine nicht invasive Methode zur Messung retinaler Gefäßdurchmesser zu Verfügung, mit der bereits die myogene Autoregulation nachgewiesen wurde (Blum et al. 1999). Der klinische Einsatz des Gerätes zur Untersuchung von Gefäßregulationskapazitäten erfordert die Erstellung von „Normwerten“ an gesunden menschlichen Probanden in Abhängigkeit vom Alter. Die Erfassung einer alterskorrelierten Veränderung der Netzhautgefäße des Menschen ist an Versuchstieren nicht möglich.

In der vorliegenden Arbeit soll mit dem „Retinal Vessel Analyzer“ nicht invasiv in vivo die alterskorrelierte Kontraktilität retinaler Arteriolen bei 100%iger Sauerstoffatmung untersucht und erstmals an gesunden Normalprobanden eine Normwertkurve erstellt werden.

6. Methodik eigener Untersuchungen

6.1. Geräteaufbau des „Retinal Vessel Analyzer“ (RVA)

Der „Retinal Vessel Analyzer“ (RVA) ermöglicht eine direkte „Online“-Vermessung retinaler Gefäße. Die Entwicklung des weltweit bisher einzigen Systems zur nicht invasiven in vivo Gefäßanalyse erfolgte an der Universitätsaugenklinik in Jena.

Folgende Komponenten gehören zum Geräteaufbau des „Retinal Vessel Analyzer“ (RVA):

1. Funduskamera
2. an die Funduskamera angeschetzte CCD-Kamera
3. Monitor für Bild der Funduskamera (Monitor 1)
4. Videorecorder (VHS)
5. Rechneereinheit mit Tastatur und Maus
6. Rechnermonitor (Monitor 2)

In das System kann außerdem ein Blutdruckmessgerät sowie ein EKG-Gerät integriert werden. Einen schematischen Überblick zeigt Abbildung 3.

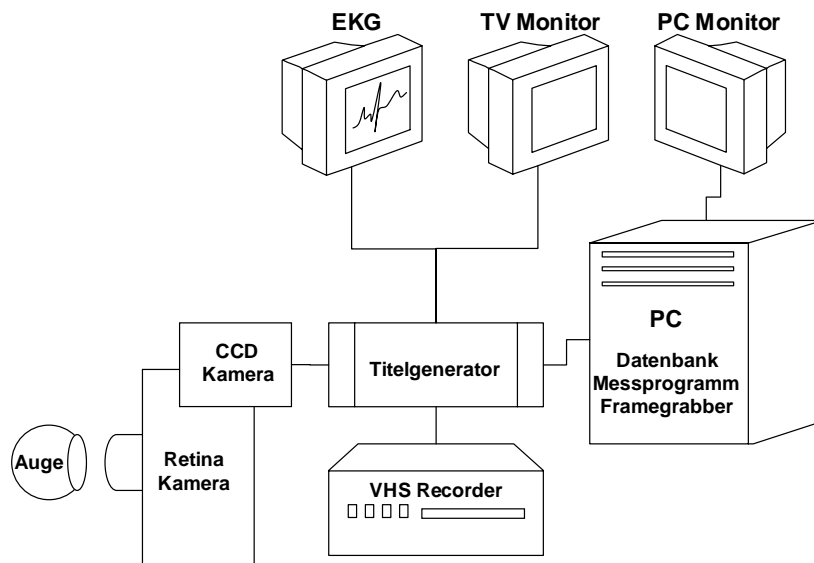


Abbildung 3: Schematischer Aufbau des Retinal Vessel Analyzers

Das Netzhautbild wird mit einer modifizierten Funduskamera FF 450 (Firma Carl Zeiss Jena) eingestellt und durch die angeschlossene CCD-Kamera auf dem Monitor wiedergegeben. Auf dem zu untersuchenden Gefäßabschnitt wird über Mausklick ein Messfenster eingerichtet. Der Messbereich der Gefäßdurchmesser beträgt 50 bis 300 μm . Auf einem zweiten Bildschirm kann der Untersucher das örtliche und zeitliche Verhalten des Gefäßdurchmessers „online“ verfolgen, welche als digitalisierte Signale von der Rechneinheit direkt aufgezeichnet werden.

Ein angeschlossener Videorecorder (Panasonic AG-7335) erlaubt die Speicherung und gegebenenfalls die Durchführung späterer „offline“-Messungen. Die einzelnen Messungen werden über die an den PC angeschlossene Datenbank gespeichert.

Abhängig von der Bildqualität können maximal 25 Messungen des Gefäßdurchmessers pro Sekunde aufgezeichnet werden, so dass aufgrund der hohen Messwertdichte die Berechnung der Mittelwerte, der Standardabweichungen, die Zahl der Einzelmessungen und die Konfidenzintervalle über einen definierten Zeitraum möglich ist. Unter

Berücksichtigung der hohen Reproduzierbarkeit und kleinen systematischen Fehler (0,5 % bei Messungen derselben Bildfolge, 2,6 % bei Wiederholungsmessungen) können Änderungen der Gefäßdurchmesser bereits ab >1 % messtechnisch signifikant sein. Die Bewertung individueller Veränderungen an einem Gefäßabschnitt ist somit statistisch signifikant möglich. Aufgrund der automatischen, in die Software des Gerätes integrierten Fehlerüberwachung kann eine hohe Messgenauigkeit erreicht werden (Vilser et al. 1996). Die Reproduzierbarkeit und Sensitivität der RVA- Messergebnisse wurden durch unabhängige Untersucher bestätigt (Polak et al. 2000).

Mit dem „Retinal Vessel Analyzer“ sind also in vivo und ohne invasive Mittel Messungen der Gefäßdurchmesser mit hoher Genauigkeit möglich. Ein Foto des RVA-Arbeitsplatzes findet sich in Abbildung 4.

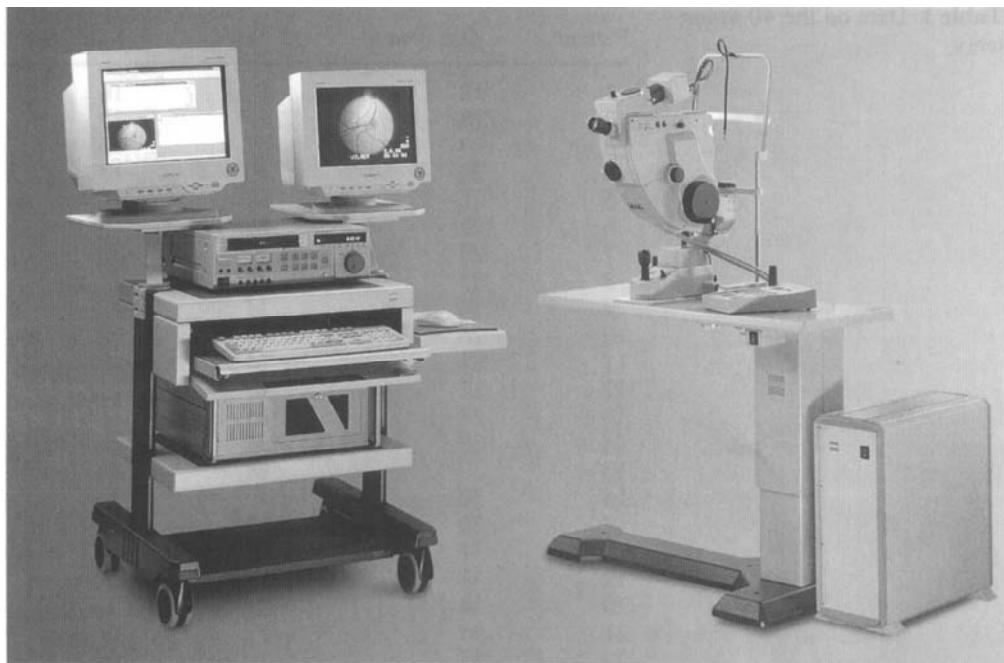


Abbildung 4: Foto des „Retinal Vessel Analyzers“ (mit freundlicher Genehmigung der Firma IMEDOS[®])

6.2. Probanden

Vor Beginn der Untersuchungen lag nach Einreichung des Versuchsprotokolls die Genehmigung durch die Ethikkommission der Friedrich-Schiller-Universität Jena vor.

32 freiwillige gesunde Probanden wurden jeweils an einem Auge untersucht. Nach einer ausführlichen Aufklärung und allgemeinmedizinischen Anamnese einschließlich Medikamentenanamnese erfolgte eine vollständige ophthalmologische Untersuchung mit Visusbestimmung, Augendruckmessung, Spaltlampenuntersuchung sowie direkter und indirekter Fundusspiegelung.

Probanden mit kardiovaskulären Erkrankungen insbesondere arteriellen Hypertonus und Diabetes mellitus oder einem gesicherten Glaukom sowie mit einer medikamentöser Behandlung (Ausnahme orale Kontrazeptiva) wurden von der Untersuchung ausgeschlossen. Auch die lokale Applikation eines Medikamentes am Auge sowie Kaffee- oder Nikotinkonsum bis vier Stunden vor der Untersuchung waren Ausschlusskriterien. Die letzte Mahlzeit wurde spätestens eine Stunde vor Untersuchungsbeginn aufgenommen.

Die Aufteilung der 32 Probanden erfolgte in 4 Altersgruppen mit jeweils 8 Personen. Auf eine gleichmäßige Geschlechterverteilung innerhalb der Gruppen wurde geachtet. In jeder Gruppe wurden 8 Probanden untersucht. Gruppe 1 wurde aus 4 männlichen und 4 weiblichen Probanden im Alter von 20 – 29 Jahren zusammengesetzt. Gruppe 2 bestand ebenfalls aus 4 männlichen und 4 weiblichen Personen zwischen 30 – 39 Jahren. In der dritten Gruppe wurden 5 männliche und 3 weibliche Probanden im Alter von 40 bis 49 Jahren eingeschlossen. Wiederum 4 männliche und ebenso viele weibliche Personen im 50. bis 60. Lebensjahr befanden sich in Gruppe 4.

6.3. Versuchsprotokoll

Nach einmaliger Applikation von Mydriatikum Stulln-Augentropfen® (Tropicamid) zur Erweiterung der Pupille erfolgte mittels „Retinal Vessel Analyzer“ (RVA) die Messung einer Netzhautarteriole zunächst über 3 Minuten bei Raumluft, um nach Mittelung der Gefäßdurchmesser einen Ausgangswert zu erhalten. Anschließend wurde eine kontinuierliche Messung über 10 Minuten durchgeführt, wobei sich die Provokationsphase mit Inhalation von 100 % Sauerstoff über Mundstück mit Applikation einer Nasenklemme über insgesamt 5 Minuten erstreckte und unmittelbar danach eine Nachmessung über 5 Minuten bei Raumluft erfolgte. Nach einer kurzen Pause wurden die Arteriolen der Probanden nochmals über 4 Minuten bei Raumluft gemessen. Das Versuchsprotokoll ist in der Abbildung 5 schematisch dargestellt.

Während der gesamten Untersuchung wurde eine definierte Region einer Netzhautarteriole (Arteria temporalis inferior oder superior) am Augenhintergrund mit dem RVA gemessen. Das Messfenster wurde 1 – 2 Papillendurchmesser von der Papille entfernt an den Gefäßen platziert, d. h. es handelte sich dabei um die 1. bis 2. Aufgabelung der Arteriole.

Während des gesamten Versuchsablaufes wurden minütlich Blutdruck, Puls, EKG und die Sauerstoffsättigung ermittelt (DINAMAP TM plus® der Firma Criticon).

Die über die 5-minütige Provokationsphase erfassten Gefäßdurchmesser wurden über den Zeitraum von 1 Minute gemittelt. Die in der 4. und 5. Minute eingetretene Gefäßreaktion auf die Sauerstoffatmung wurden gegenüber dem Ausgangswert in Prozent berechnet.

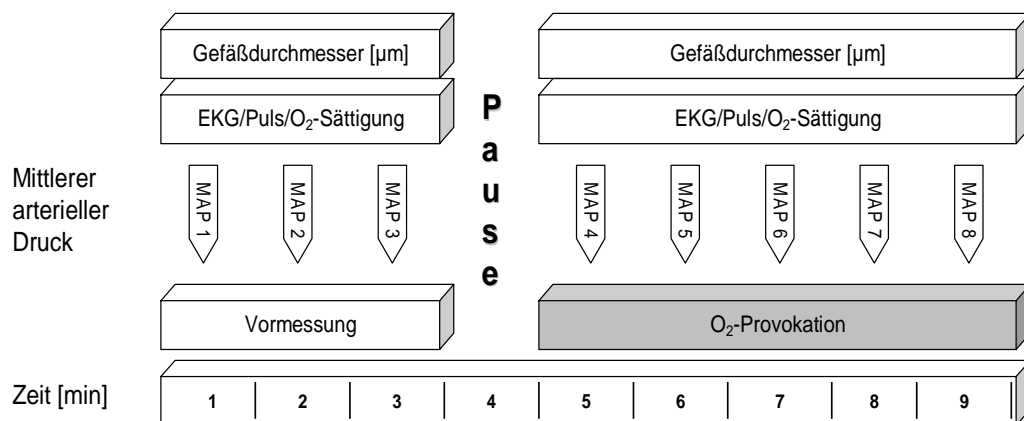


Abbildung 5: Schematischer Ablauf des Versuchsprotokolls

6.4. Statistische Auswertung

Unter Beratung und Anleitung des Instituts für medizinische Daten, Informatik und Dokumentation der Friedrich-Schiller-Universität Jena erfolgte die statistische Auswertung der erhobenen Daten. Das Programm SPSS Version 7.5., das vom Universitäts-Rechenzentrum zur Verfügung gestellt wurde, fand bei der statistischen Berechnung Anwendung.

Durch Berechnung der Mittelwerte und der Standardabweichung wurde die maximale Reaktion der Gefäße innerhalb der einzelnen 4 Altersgruppen ermittelt. Mit dem Mann-Whitney-Test (verteilungsabhängiger Test für zwei nicht verbundene Stichproben) wurde der Vergleich zwischen den 4 Altersgruppen durchgeführt. Signifikant wurden p-Werte unter 0,05 gewertet.

Mit dem linearen Korrelationskoeffizienten nach Pearson wurden die Gefäßreaktionen auf eine Korrelation zum Alter der Probanden überprüft.

7. Ergebnisse

7.1. Aufteilung der Probanden in die Einzelgruppen

Es wurden insgesamt 32 Freiwillige nach dem bereits vorgestellten Versuchsprotokoll (unter 5.3.) eingeschlossen. Die Probanden waren zwischen 20 und 60 Jahre alt und wurden in die 4 Einzelgruppen aufgeteilt. Unter den Probanden waren insgesamt 17 männliche und 15 weibliche Personen. Angaben zu Alter und Geschlecht sind in der Tabelle 1 sichtbar.

Die Messungen und die Sauerstoffprovokation wurden von allen Probanden gut toleriert; es ereigneten sich keine Zwischenfälle, die zum Abbruch des Versuchs führten.

Direkte Manipulationen am Bulbus während des Versuchsablaufes wurden vermieden. Durch die Untersuchung trat keine Veränderung des intraokularen Drucks auf.

Die Provokation mit Sauerstoff bewirkte während der Untersuchung keine signifikante Änderung der Pulsfrequenz, des systolischen und diastolischen Blutdrucks und des mittleren arteriellen Blutdrucks (MAP).

Über den gesamten Versuchsablauf wurde kontinuierlich die Sauerstoffsättigung über einen Pulsoxymeter (DINAMAP TM plus[®] der Firma Criticon) gemessen. Es konnte bei allen Probanden eine Sauerstoffsättigung von 96 % bis 100 % nach Einatmung von Sauerstoff nachgewiesen werden.

Nr.	Alter	Geschlecht
Gruppe 1		
1	22	w
2	22	w
3	23	m
4	24	m
5	24	w
6	25	w
7	26	m
8	26	m
Gruppe 2		
9	31	w
10	33	m
11	34	m
12	35	w
13	35	w
14	37	m
15	38	m
16	38	w
Gruppe 3		
17	40	w
18	40	m
19	41	m
20	41	m
21	41	m
22	42	w
23	48	m
24	48	w
Gruppe 4		
25	50	m
26	51	w
27	52	w
28	53	w
29	55	m
30	58	m
31	59	w
32	60	m

Tabelle 1: Daten aller 32 Probanden im Überblick

7.2. Die Gefäßreaktion nach 100 % Sauerstoffatmung in den Einzelgruppen

31 Probanden zeigten nach Einatmung von 100 % Sauerstoff eine arterielle Vasokonstriktion, die in der 4. bzw. 5. Minute der Provokationsphase ein Maximum erreichte.

Einzige Ausnahme war eine 52-jährige Probandin (Gruppe 4), bei der bereits in der 1. Minute der Provokation mit Sauerstoff eine Vasodilatation nachzuweisen war, welche in der 5. Minute einen maximalen Wert von 3,6 % gegenüber dem Ausgangswert betrug.

Tabelle 2 zeigt die einzelnen Daten der arteriellen Gefäße aller 32 Probanden in Bezug auf die maximale Vasokonstriktion.

Nr.	Ausgangswert der Gefäßweite [µm]	Maximale Gefäßantwort [µm] nach 100% Sauerstoff	Arterielle Vasokonstriktion [%] nach 100% Sauerstoff
Gruppe 1			
1	85,4	72,4	-15,2
2	117,7	96,6	-17,9
3	124,5	93,8	-24,6
4	93,6	82,7	-11,6
5	95,0	88,3	-7,0
6	108,5	91,0	-16,1
7	135,1	119,1	-11,8
8	104,5	91,3	-12,6
Gruppe 2			
9	104,7	94,2	-10,0
10	116,8	104,6	-10,4
11	93,3	81,8	-12,3
12	141,4	122,4	-13,4
13	111,7	107,9	-3,4
14	101,9	99,0	-2,8
15	93,9	88,9	-5,3
16	112,2	92,2	-17,8
Gruppe 3			
17	114,5	105,7	-7,6
18	100,5	96,2	-4,2
19	87,0	85,6	-1,6
20	117,3	114,2	-2,6
21	110,6	100,7	-8,9
22	110,7	103,8	-6,2
23	100,4	96,2	-4,2
24	109,6	108,1	-1,5
Gruppe 4			
25	101,5	95,3	-6,1
26	95,4	93,6	-1,8
27	123,6	128,1	+3,6(!)
28	107,1	101,6	-5,1
29	88,5	87,9	-0,6
30	83,8	82,0	-2,1
31	90,5	87,2	-3,6
32	96,6	90,5	-6,3

Tabelle 2: Gefäßweiten [µm] und Vasokonstriktion [%]

In Gruppe 1 konnte im Durchschnitt in der 4. bzw. 5. Minute der Sauerstoffatmung eine Vasokonstriktion von -14,6 % ($\pm 5,2$) nachgewiesen werden. Die Abbildung 5 zeigt eine grafische Darstellung der maximal gemessenen Gefäßantwort.

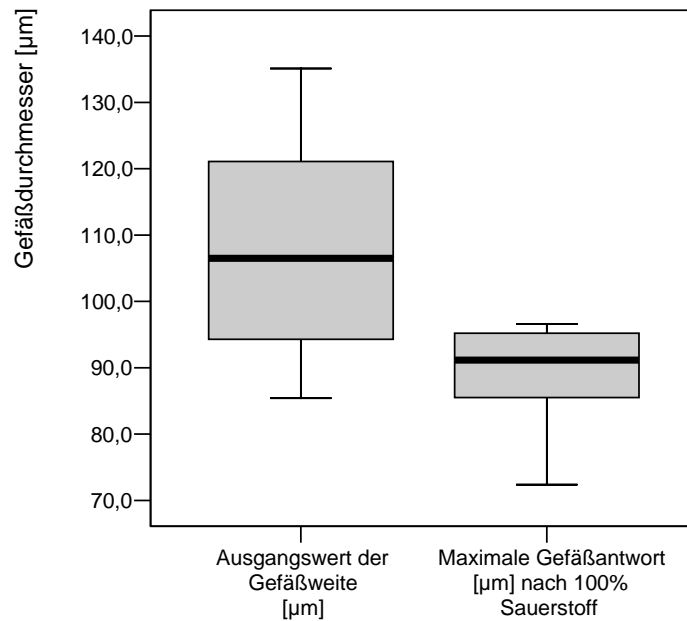


Abbildung 5: Gruppe 1 - Vasoreaktion als Boxplot

In Gruppe 2 lag die Vasokonstriktion gegenüber dem Ausgangswert bei -9,4 % ($\pm 5,2$). Der Unterschied der 2. Gruppe gegenüber der 1. Gruppe war nicht statistisch signifikant ($p = 0,074$). Die erhobenen maximalen Gefäßreaktionen der Vasokonstriktion sind in der Abbildung 6 sichtbar.

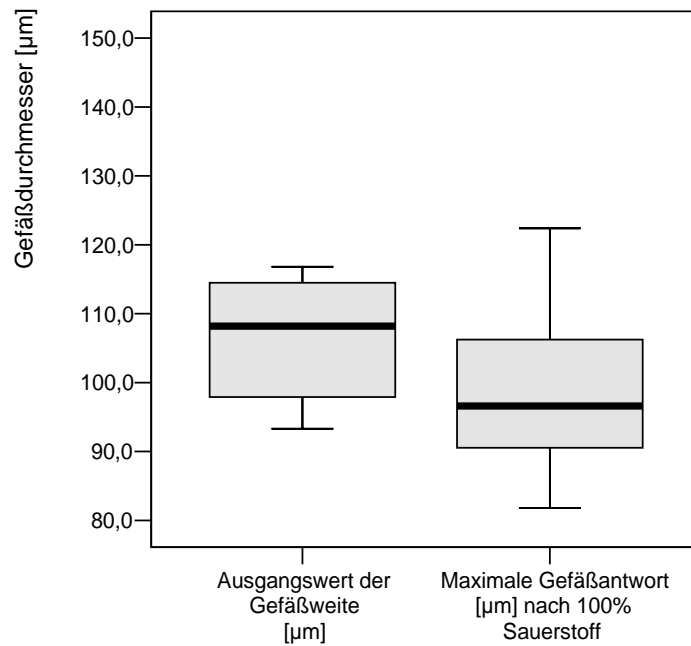


Abbildung 6: Gruppe 2 - Vasoreaktion als Boxplot

Eine geringere Gefäßverengung von durchschnittlich -4,6 % ($\pm 2,7$) nach Sauerstoffeinatmung konnte in Gruppe 3 gemessen werden, wie in der grafischen Darstellung (Abbildung 7) sichtbar ist. Diese war gegenüber Gruppe 1 und Gruppe 2 signifikant reduziert (Gruppe 1 $p = 0,002$; Gruppe 2 $p = 0,046$).

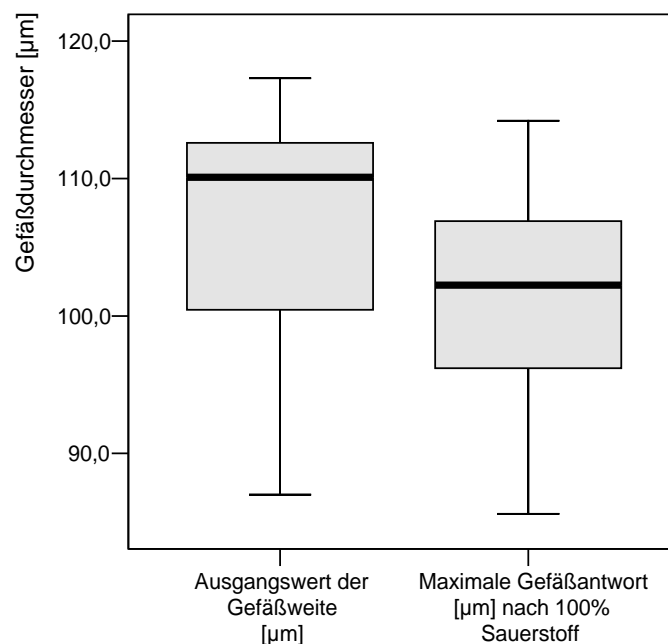


Abbildung 7: Gruppe 3 - Vasoreaktion als Boxplot

Eine weitere Reduktion der Gefäßweite auf Sauerstoff war in Gruppe 4 mit einer durchschnittlichen Vasokonstriktion von $-2,8\%$ ($\pm 3,3$) messbar. Gegenüber Gruppe 1 war das Ergebnis mit $p = 0,001$, gegenüber der 2. Gruppe mit $0,016$ ebenfalls statistisch signifikant. Keine Signifikanz konnte gegenüber der 3. Gruppe nachgewiesen werden, diese lag bei $p = 0,34$. In der Abbildung 8 ist wiederum die maximal erreichbare Gefäßweite dargestellt.

In Gruppe 4 zeigte eine Probandin eine leichte Vasodilatation von $3,6\%$ gegenüber dem Ausgangswert vor Provokation mit Sauerstoff.

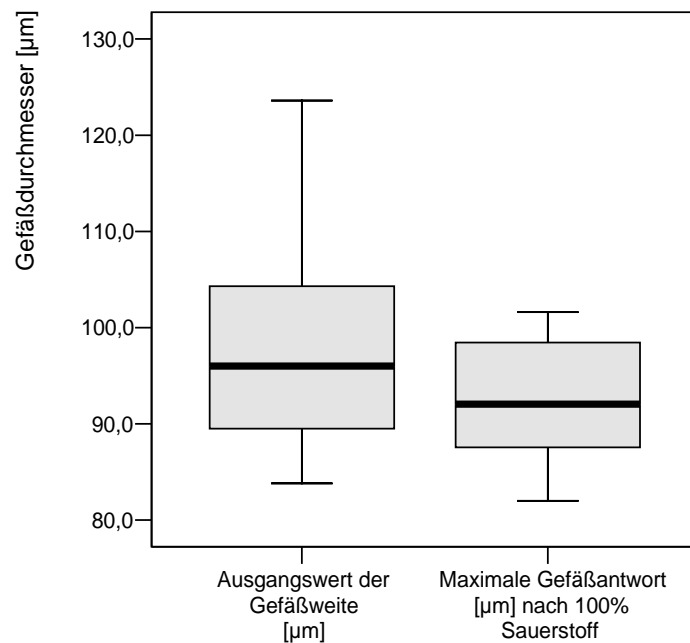


Abbildung 8: Gruppe 4 - Vasoreaktion als Boxplot

In Abbildung 9 sind die Ergebnisse der 4 Altersgruppen zusammenfassend grafisch als Box-Plot dargestellt.

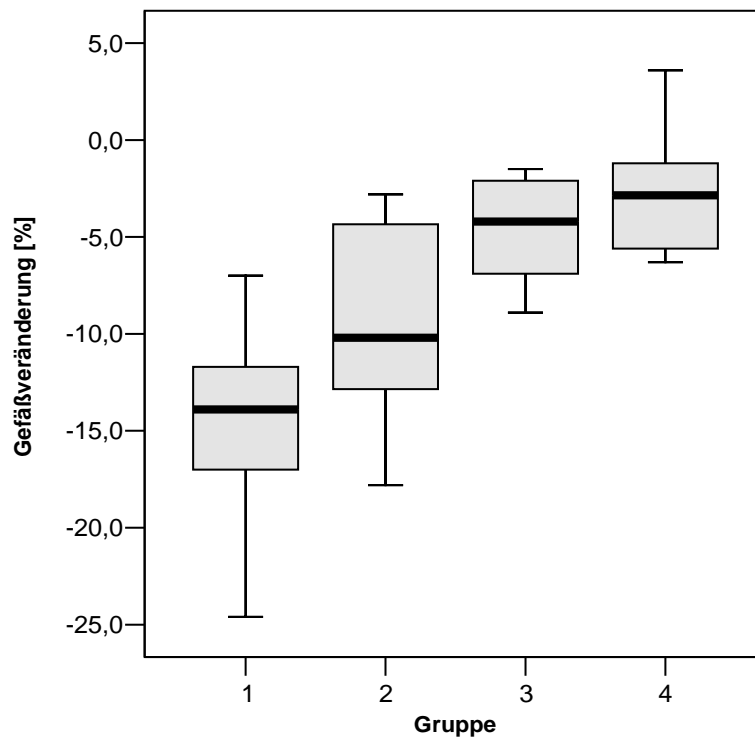


Abbildung 9: Ergebnisse der vier Altersgruppen als Box-Plot

Alle Probanden (bis auf zwei Ausnahmen, bei denen noch eine Engstellung bis zum Ende der 2. Nachmessung bei Raumluft zu beobachten war) erreichten die präexperimentelle Ausgangsgefäßweite nach Einatmung von Raumluft über mindestens 5 Minuten nach der Provokation mit Sauerstoff. Die Mehrzahl der Probanden (8/30) erreichten die Gefäßweite der Vormessung in der 1. Minute der 2. Nachmessung unter Raumluft, d. h. etwa 7 Minuten nach Ende der Provokationsphase. Bei allen Personen, die eine Rückbildung der Vasokonstriktion zeigten, kam es zu einer leichten Weitstellung, d. h. Vasodilatation der Gefäße, welche im Mittel hinsichtlich aller Altersgruppen 2,1 % betrug. In der 3. und 4. Altersgruppe trat eine stärkere Vasodilatation (im Mittel 3,25 % bzw. 2,5 %), wobei es im weiteren Verlauf in Einzelfällen auch zu einer Zunahme der Weitstellung kam (bis 11,2 %).

7.3. Der Einfluss des Alters auf die Gefäßkontraktilität nach 100 % Sauerstoffatmung

Insgesamt konnte eine alterskorrelierte signifikante Abnahme der Kontraktilität retinaler Arterien bei Provokation mit 100 % Sauerstoff nachgewiesen werden. Die Überprüfung der Gefäßweitenreduktion auf eine Korrelation zum Alter erfolgte mit dem Korrelationskoeffizienten nach Pearson. Mit einem Koeffizienten von 0,73 konnte eine 2-seitige Signifikanz auf dem Niveau 0,01 nachgewiesen werden.

Abbildung 10 zeigt die grafische Darstellung der Alterskorrelation.

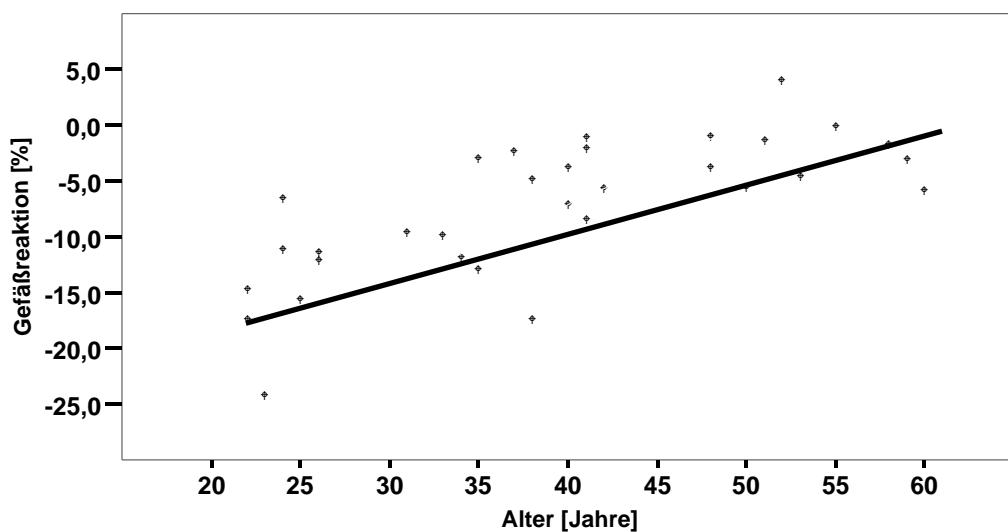


Abbildung 10: Grafische Darstellung der Altersabhängigkeit der Gefäßkontraktilität bei allen 32 Probanden

8. Diskussion

8.1. Untersuchungstechniken zur Messung der retinalen Mikrozirkulation

Durch die anatomischen Verhältnisse erlaubt das menschliche Auge als einziges Organ eine direkte Beobachtung der Durchblutung in vivo. In der Vergangenheit wurde eine Vielzahl ophthalmologischer Geräte und Untersuchungstechniken eingesetzt, um die Mikrozirkulation des menschlichen Auges zu erforschen. Bisher gelang es jedoch keinem der hochleistungsfähigen Apparaturen die gesamten Bereiche der okulären Hämodynamik zu erfassen.

Wichtige Messgrößen sind der Blutfluss, die Gefäßdurchmesser, arterio-venöse Kreislaufzeiten und die Blutflussgeschwindigkeit.

Um eine Aussage über die Regulationskapazität der retinalen Gefäße durch Änderung der Gefäßweite zu erhalten, wurden bereits frühzeitig Provokationsverfahren mit Atemgasgemischen eingesetzt und mit verschiedenen Methoden untersucht (Deutsch et al. 1983, Riva et al. 1983, Schütttauf et al. 1998).

Wichtig sind für den klinischen Einsatz dabei vor allem die Anforderungen an das eingesetzte Gerät, wie zum Beispiel die Bedienungsfreundlichkeit, der rasche, unkomplizierte Einsatz der Messmethode mit der Möglichkeit zur Wiederholung und vor allem die geringe Invasivität, mit der das Messverfahren problemlos am Patienten eingesetzt werden kann.

Mit dem Retinal Vessel Analyzer wurde sich in der vorliegenden Arbeit an einem relativ neuen Gerät bedient, welches sich hinsichtlich der Technik von den bisherigen Messmethoden deutlich unterscheidet.

Die folgenden Ausführungen sollen einen Überblick zu den bisherigen Untersuchungstechniken im Hinblick auf die Messung der retinalen und

orbitalen Gefäße geben. Insbesondere wird auf die Verwendung von Atemgasen und Atemgasgemischen als Provokationsverfahren näher eingegangen.

8.1.1. Messung der Gefäßweite an Fundusfotografien durch Mikrometrie und Densitometrie

1931 wurde erstmals eine Methode zur Vermessung der retinalen Gefäße entwickelt, bei der man durch Vergrößerung die Gefäßweiten von Fundusfotografien bestimmen konnte (Haessler und Squier 1931).

1963 wurde von Hickham durch Anhebung des Kontrastes im monochromatischen Licht mit Hilfe von Filtersystemen und die Messung der Dichte auf den Fundusfotografien die venöse und arterielle Sauerstoffsättigung gemessen (Hickam et al. 1963). Ein Jahr darauf wurden durch die Inhalation von Sauerstoff und Sauerstoff-Kohlendioxid-Gemischen die autoregulatorischen Fähigkeiten der retinalen Gefäße nachgewiesen (Frayser und Hickam 1964).

Einige Jahre später wurde mit der gleichen Methode und unter Zugabe des Indikators Fluoreszein, auf den später noch näher eingegangen wird, die Vasokonstriktion unter Sauerstoffatmung, die Sauerstoffsättigung und die durchschnittliche retinale Kreislaufzeit unter verschiedenen Sauerstoffpartialdrücken untersucht (Frayser et al. 1967).

1993 wurde anhand der monochromatischen Fundusfotografie der vasokonstriktorische Effekt von 100 % Sauerstoff auf retinale Venen mit dem von Carbogen verglichen (Pakola und Grunwald 1993). Es konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Allerdings ließen sich durch die unscharfe Trennung der Erythrozytensäule von der Plasmarandzone des zu vermessenden Gefäßes (Bulpitt et al. 1970) in den

Untersuchungen zur Reproduzierbarkeit große Schwankungen objektivieren, welche in einer Spanne von 5 % (Hodge 1969) bis 11 % (Delori et al. 1988) angegeben wurden und die Methode der Fundusfotografie dadurch in den Hintergrund rücken lässt.

Durch die Entwicklung der Densitometrie, die von Behrendt 1966 erstmals beschrieben wurde, erhoffte man sich eine höhere Messgenauigkeit und eine weniger zeitintensive und vereinfachte Untersuchung. Dieses Verfahren basiert auf der Detektion objektiv unterschiedlicher Lichtintensitäten auf Fotonegativen durch einen Fotomultiplier (Behrendt 1966).

Aufgrund der wiederholten Schwankungen der Gefäßdurchmesser in Abhängigkeit der Vasomotorik, lassen sich jedoch auch mit dieser Methode nur Momentaufnahmen der Gefäße erfassen. Eine kurzfristige Änderung der Gefäßweite, d. h. die dynamische Gefäßreaktion, kann vom Fundusfoto nicht beurteilt werden. Auch neuere Studien aus den letzten Jahren können somit nur eingeschränkt bewertet werden (Rassam et al. 1995, Suzuki 1995).

Zusätzlich ist das Verfahren an Patienten durch die hohe Lichtbelastung und lange Untersuchungsdauer sowie durch die aufwendige Apparatur in der Klinik nur begrenzt einsetzbar.

8.1.2. Die Fluoreszenzangiografie

1961 konnten erstmalig retinale Gefäße durch eine intravenös verabreichte Indikatorlösung (Fluoreszein) auf einer Fundusfotografie sichtbar gemacht werden (Novotny und Alvis 1961). Die Entwicklung dieses Verfahrens war Gegenstand vieler Studien über die okuläre Durchblutung mittels Indikator Technik. Zunächst war durch die Blitztechnik nur alle 12 Sekunden eine Aufnahme möglich.

1965 wurde durch Hickam und Frayser eine Methode zur Messung der

retinalen Durchblutungszeit durch Gabe von Fluoreszein entwickelt (Hickam und Frayser 1965). An 29 Probanden konnte von den Autoren durch das neue Verfahren ein Zeitintervall von 4,7 (+/- 1,1) s gemessen werden.

Auch die Auswirkung der Einatmung von hyperbarem Sauerstoff auf die retinale Durchblutung konnte mit Hilfe der Fluoreszeininjektion nachgewiesen werden. Eine verlängerte Durchblutungszeit nach Anstieg des Sauerstoffpartialdruckes wurde gemessen (Frayser et al. 1967).

1972 konnte die Intensität der Fluoreszens retinaler Gefäße direkt fluorometrisch, also ohne Herstellung von Fotografien, bestimmt werden (Niesel und Gassman 1972). Die Apparatur konnte nach Bearbeitung direkt an eine Zeiss Funduskamera angeschlossen werden und das Messverfahren damit verbessern (Riva et al. 1978). Dadurch war eine Messung der durchschnittlichen retinalen Zirkulationszeiten möglich (Eberli et al. 1979).

Videoangiografie

Der Einsatz der Videokamera verbesserte die zeitliche Auflösung der Angiografien. Durch die Möglichkeit die erhobenen Daten zu digitalisieren konnten neue hämodynamische Messwerte erfasst werden. Insbesondere konnte die Flussgeschwindigkeit in einem gewissen Gefäßabschnitt durch das Platzieren mehrerer Messfenster bestimmt werden (Preußner et al. 1983).

Durch das neue Messverfahren konnte 1983 der Effekt nach Sauerstoff- und Carbogeninhalation (5 % CO₂ in 95 % O₂) an menschlichen retinalen Arterien und Venen im Sinne einer Vasokonstriktion untersucht werden (Deutsch et al. 1983).

Scanning Laser Ophthalmoskopie (SLO)

Durch die Einführung der Scanning Laser Fluoreszein Angiografie konnten neue Möglichkeiten eröffnet und eine Verbesserung der quantitativen

Angiografie erzielt werden. Als Lichtquelle wird ein Argon-Laser-Strahl genutzt, der sich über die Retina bewegt. Streulicht und -reflektionen werden durch eine konfokale Blende abgehalten, das zurückkommende Signal passiert diese Blende und ein Videosignal wird erzeugt, welches auf einem Videorekorder oder anderen digitalen Recorder aufgenommen werden kann. Vorteilhaft ist, dass die Energie der Laser-Illumination der Retina weit unter der bei der üblichen Fundusfotografie verwendeten liegt, die Illumination insgesamt reduziert, der Kontrast wesentlich höher und die Orts- und Zeitauflösung besser ist. Die geringe Eindringtiefe des Strahles erlaubt allerdings nur eine Bestimmung des laminären Randstromes, nicht des zentralen Blutstromes und ist daher zur Blutflussmessung ungeeignet.

Mit der SLO ist es möglich, die Geschwindigkeiten in makulären und epipapillären Kapillaren zu bestimmen, Durchmesser und arteriovenöse Passagezeiten gleichzeitig zu messen und die Messungen den Gefäßen anatomisch zuzuordnen.

Die in einer Studie gemessenen arteriovenösen Passagezeiten bei gesunden Probanden unterlagen jedoch in den Wiederholungsmessungen deutlichen Schwankungen bis zu 16 % (Wolf et al. 1994).

Mit dieser Methode konnte unter Verwendung des Atemgasgemisches Carbogen (6 % CO₂ und 94 % O₂) eine Reduktion der retinalen arteriovenösen Passagezeit, jedoch keine statistisch signifikante Änderung der Gefäßweite retinaler Arterien nachgewiesen werden (Arend et al. 1994).

Die Nachteile dieser Messmethode liegen im hohen Anschaffungspreis (85.000 Euro), in den nicht automatisierten, zeit- und arbeitsaufwendigen Messungen und in den hohen Anforderungen an den Untersucher. Außerdem zählt das Verfahren durch die Applikation eines intravenösen Farbstoffes zu den invasiven Messmethoden und reduziert daher die Möglichkeit des klinischen Einsatzes.

8.1.3. Messung des Blutflusses und der Blutflussgeschwindigkeit mit der Laser-Doppler-Technik

Die Laser-Doppler-Geschwindigkeitsmessung, auch Laser-Doppler-Velocimetrie (LDV) genannt, ist eine Technik, die zur Messung der maximalen Geschwindigkeit von Blutzellen in den großen papillennahen retinalen Gefäßen und Venolen eingesetzt wird (Green et al. 1983, Riva et al. 1985). Eine niedrig energetische Laser-Lichtquelle illuminiert den Fundus. Die ständige Frequenzänderung durch das von den bewegenden Blutpartikeln reflektierte Laserlicht ist proportional der Geschwindigkeit, so dass die Blutflussgeschwindigkeit durch den Doppler-Effekt berechnet werden kann.

Um den Blutfluss zu berechnen, können nur mit einem zusätzlichen Gerät mittels Mikrometrie die Gefäßdurchmesser bestimmt werden, so dass ein Störfaktor vorliegt, der die Genauigkeit der Messung einschränkt. Eine weitere Schwierigkeit besteht darin, den Laserstrahl direkt im Zentrum des Gefäßes zu positionieren, da kleinste Augenbewegungen zu Störungen der Messung führen. Die schwierige Handhabung des Gerätes und das komplexe Messverfahren erschweren den Einsatz als klinische Routineuntersuchung.

Als Vorteil ist zu sehen, dass die Messmethode nicht-invasiv und eine Anwendung von intravenös zu applizierenden Indikatoren nicht notwendig ist.

1983 wurde mit dem Messverfahren der Laser-Doppler-Velocimetrie nach Einatmung von 100 % Sauerstoff an menschlichen retinalen Gefäßen gesunder Probanden eine Abnahme der Blutflussgeschwindigkeit auf 53 % und des Blutflusses auf 64,3 % berechnet. Mittels monochromatischer Fundusfotografie wurde nach Sauerstoff eine Vasokonstriktion der retinalen Arterien und Venen um 12 % bestimmt (Riva et al. 1983).

Eine Weiterentwicklung der Laser-Doppler-Velocimetrie stellt die Laser-Doppler-Flowmetrie (LDF) dar (Riva et al. 1992). Ein Laserstrahl wird auf die Retina oder den Sehnerven gerichtet. Das Spektrum des reflektierten Lichts

enthält die Dopplerfrequenzen der bewegten Partikel. Eine direkte Messung des Blutflusses ist mit dieser Technik möglich. Allerdings kann durch die variable Penetrationstiefe des Laserstrahls die Messung ungenau sein, da jedes sichtbare und auch unsichtbare Gefäß in die Flussmessung einbezogen wird.

Ein weiterer Nachteil ist die variable Eindringtiefe des Laserlichtes, so dass in Abhängigkeit der Gewebedichte mehr oder weniger Dopplersignale empfangen werden und somit die Blutflussrate stark variieren kann.

Bei der Heidelberg-Retinal-Flowmetrie (HRF) kommt eine konfokale Optik zum Einsatz, die das Stichprobenvolumen optisch einschränkt (Michelson et al. 1995). Mit dieser Technik können Dopplerverschiebungen für jeden Punkt der Retina in einem $10 \times 10 \mu\text{m}$ großen Messareal analysiert werden. Es können Fluss- und Geschwindigkeitsmessungen durchgeführt werden.

Als vorteilhaft an diesem Messverfahren ist anzusehen, dass die Messergebnisse direkt vorliegen und die Untersuchung nicht-invasiv, d. h. für den Patienten weniger belastend, durchgeführt werden kann.

Die Eindringtiefe ist im Gegensatz zur Laser-Doppler-Flowmetrie zwar geringer, ist jedoch trotzdem nur auf $400 \mu\text{m}$ (LDF bis 1 mm) begrenzt, so dass bei der Erfassung vieler gefäßreicher Strukturen die Flussgeschwindigkeit höher ausfallen kann (Amberson et al. 1997).

Weitere Nachteile dieses Verfahrens bestehen darin, dass Geschwindigkeitsmessungen nur auf $0,78 \text{ mm/s}$ limitiert sind, keine Korrektur für Augenbewegungen vorhanden ist und die Technik von der Erfahrung des Untersuchers abhängig ist (Funk et al. 2000).

Bisher wurden Messungen der Flussraten- und -geschwindigkeiten vor allem bei Patienten mit Glaukom durchgeführt (Harris et al. 1997, Nicolela et al. 1997). Auch Untersuchungen zur Autoregulationskapazität retinaler Gefäße bei Patienten mit Diabetes mellitus wurden veröffentlicht (Dumskyj et al. 1996, Cuypers et al. 2000).

Nach Provokation durch Einatmen von 100 % Sauerstoff konnte mit dem HRF eine signifikante Abnahme des Blutflusses in der Papille der menschlichen Retina von 34,7 % (+/- 2,5) und nach Provokation mit Carbogen (5 % CO₂ und 95 % Sauerstoff) eine Zunahme des Flusses um 18,3 % (+/- 2,6) nachgewiesen werden (Lietz et al. 1998).

8.1.4. Farbduplexsonografie

Die farbkodierte Duplexsonografie ermöglicht die bildliche Darstellung mittels konventionellen Ultraschalls und die gleichzeitige farbige Darstellung des Blutflusses durch Messung der Dopplerfrequenzen und der Blutflussgeschwindigkeiten. 1991 wurden Studien veröffentlicht, die zeigten, dass mit diesem Verfahren eine gute Darstellung der retrobulbären Gefäße, der Ziliargefäße und der Arteria centralis retinae mit der Berechnung der maximalen Flussgeschwindigkeiten möglich ist (Guthoff et al. 1991, Lieb et al. 1991).

Auch durch Verwendung verschiedener Atemgasgemische wurde mittels Duplexsonografie die retinale Durchblutung untersucht. Nach Inhalation von 100 % Sauerstoff konnte ein Anstieg des peripheren Gefäßwiderstandes (Resistance-Index = RI) in der Arteria ophtalmica und Arteria centralis retinae verzeichnet werden, was auf eine Vasokonstriktion zurückzuführen ist. Nach Einatmung eines Gemisches von 92 % Sauerstoff und 8 % Kohlendioxid ließ sich dagegen eine signifikante Abnahme des Gefäßwiderstandes, d. h. eine Vasodilatation, in den beiden Gefäßen nachweisen. Die Inhalation des Atemgasgemisches mit 95 % Sauerstoff und 5 % CO₂ (Carbogen) ergab keine signifikante Änderung des Gefäßwiderstandes (Schüttauf et al. 1998).

Das Gerät bietet den Vorteil der nicht-invasiven Messung von retrobulbären und orbitalen Gefäßen, die beliebig oft ohne stärkere Belastung für den Patienten wiederholt werden können. Außerdem können kontinuierliche Messungen durchgeführt werden. Nachteile sind die hohen Anschaffungs- und

Wartungskosten des Gerätes, die Fehleranfälligkeit bei unerfahrenen Untersuchern und die mögliche Augeninnendruckerhöhung durch Druck des Schallkopfes auf den Bulbus.

8.1.5. Langham „Ocular-Blood-Flow (OBF)-System“

Mit dem von Langham entwickelten Gerät ist eine Messung der pulsabhängigen Komponente des okulären Blutflusses während des Herzzyklus durch Änderung des Augeninnendruckes möglich. Die Pulswellenamplitude wird mit einem modifizierten Pneumotonometer aufgezeichnet, was zur Berechnung der okulären Blutvolumen-Änderung und dadurch zur Messung des okulären Blutflusses führt. Druckschwankungen von bis zu 2 mmHg können gemessen werden (Langham et al. 1963 und Langham et al. 1989). Man nimmt an, dass die Messungen vorrangig den choroidalen Blutfluss repräsentieren, der 90 % der Blutzirkulation ausmacht. Die retinale Durchblutung hat nur einen geringen Anteil am totalen okulären Blutfluss.

Bezüglich der choroidalen Hämodynamik wurde 1999 eine Studie veröffentlicht, in der mit Hilfe des OBF der pulsatile okuläre Blutfluss nach Einatmung von 100 % Sauerstoff und Carbogen (95 % Sauerstoff und 5 % Kohlendioxid) untersucht wurde. Nach Provokation mit Sauerstoff konnte keine signifikante Änderung des choroidalen Blutflusses, nach Carbogen ein Anstieg um 7,7 % verzeichnet werden (Kergoat und Faucher 1999).

Durch seine einfache Bedienung ist das OBF-System sehr verbreitet. Vorteilhaft ist auch die fehlende Invasivität der Methode. Allerdings ist die Vergleichbarkeit der Ergebnisse von unterschiedlichen OBF-Instrumenten eingeschränkt (Spraul et al 1995).

8.1.6. Okulo-Oszillo-Dynamografie (OODG)

Bei diesem Verfahren kann der Blutdruck in der Arteria centralis retinae und in den Ziliararterien gemessen werden, indem durch einen Sog auf den Bulbus ein Anstieg des intraokularen Druckes erzielt wird und sich der ändernde Augenpuls aufgezeichnet wird. Dieser ist abhängig vom Augeninnendruck und vom Blutvolumen im Auge, welcher vom Herzkreislaufzyklus beeinflusst wird (Ulrich und Ulrich 1985).

Bei Erhöhung des durch einen Saugnapf erzeugten Druckes auf die Sklera kann der okuläre Puls in den Gefäßen ganz ausgelöscht werden, so dass eine Aussage über den systolischen Druck getroffen werden kann.

Die Methode kann zwar nicht-invasiv durchgeführt werden, ist aber durch die Verwendung des Saugnapfes eine für den Patienten sehr belastbare und unangenehme Untersuchung.

Für Untersuchungen mit Atemgasgemischen wurde das Gerät bisher noch nicht verwendet.

8.1.7. „Blue field entopic“ Simulationstechnik

Das entopische Phänomen („Blue field“) beschreibt den Effekt, der bei Betrachtung des blauen Lichts von einer Wellenlänge von 430 nm entsteht. Durch die Beobachtung des blauen Lichts ist der Betrachter in der Lage, die Bewegung seiner Leukozyten in den paramakulären Kapillaren zu sehen.

1980 führten Riva und Petrig den „Blue field“ - Simulator ein, welcher eine Erfassung der paramakulären Leukozytengeschwindigkeit und der Leukozytendichte ermöglichte (Riva und Petrig 1980). Damit war es möglich, den Probanden ihre entopischen Bilder sichtbar zu machen und die Bewegung von simulierten Leukozyten auf einem Computerbildschirm mit der Bewegung

ihrer Leukozyten zu vergleichen.

Die Untersuchungsmethode ist in ihrer Handhabung einfach und nicht-invasiv.

Nachteile des Verfahrens sind die Subjektivität, d. h. die Abhängigkeit von den kognitiven und perzeptiven Fähigkeiten des Probanden und ein Visus von mindestens 0,5.

8.1.8. Der Retinal Vessel Analyzer (RVA)

Mit dem Retinal Vessel Analyzer (RVA, Firma IMEDOS®, Weimar) ist eine Messung retinaler Gefäßweiten, die über eine Funduskamera dargestellt werden, mit deren örtlicher und zeitlicher Veränderung in vivo und „online“ möglich. Es ist daher möglich, eine zuvor ausgewählte Gefäßstrecke über einen bestimmten Zeitraum fortlaufend zu vermessen und dabei dynamische Gefäßreaktionen abhängig von physiologischen Parametern oder Reaktionen auf Provokationsfaktoren zu messen und zu beobachten.

Angaben zur Funktionsweise und über den Geräteaufbau wurden bereits im Abschnitt 5.1. dargestellt.

Der Messvorgang basiert auf adaptiven Algorithmen, die vollautomatisch die Helligkeitsunterschiede der Erythrozytenstromsäule erkennen und dadurch den Gefäßdurchmesser berechnen können. Der Plasmarandstrom zwischen Gefäßwand und Blutzellenströmung und die Gefäßwand selbst werden bei der Messung nicht erfasst.

Die zur Darstellung der Gefäße von der Funduskamera benötigte Lichtmenge ist sehr gering und es ist daher eine nahezu reflexfreie Abbildung möglich. Über die permanente Überwachung und Anpassung der Bild- und Kantenqualität werden unscharfe Bilder nicht aufgezeichnet. Dadurch können die spontanen und nicht zu unterdrückenden Augenbewegungen ausgeglichen

werden. Dies ermöglicht eine sehr hohe Messgenauigkeit, die bei den bisherigen Messverfahren nicht erwartet werden konnte (Vilser et al.1996). Die Reproduzierbarkeit und Sensitivität der RVA-Messergebnisse wurden bereits durch Studien belegt (Polak et al. 2000, Seifert und Vilser 2002).

Im Gegensatz zu den bekannten Untersuchungsmethoden kann mit dem RVA eine sehr hohe Messwertdichte erreicht werden, da das Gerät bei guten Messbedingungen 25 Messungen pro Sekunde am retinalen Gefäß ermöglicht. Daher ist die Berechnung eines Mittelwertes mit Standardabweichung und Konfidenzintervall nach kurzer Messzeit möglich.

Die Bedienung des Gerätes ist einfach und erfordert nur eine kurze Einarbeitungszeit. Während der Messung ist darauf zu achten, dass Manipulationen am Auge vermieden werden, da eine Änderung des intraokulären Druckes auch zu Veränderungen des Gefäßverhaltens führen kann (Riva et al. 1977).

Ein wesentlicher Vorteil des RVA besteht darin, dass sie Messungen durch die geringe Lichtbelastung beliebig wiederholbar, nicht-invasiv und für den Patienten wenig belastbar sind. Der problemlose Einsatz des Gerätes an Patienten konnte bereits bewiesen werden (Blum et al. 1997).

Die Messung der Flussgeschwindigkeit und somit die Berechnung des Blutflusses ist mit dem RVA nicht möglich. Auch die Vermessung nicht sichtbarer Gefäße, z. B. choroidaler Gefäße kann nicht durchgeführt werden. Hierbei hat sich die Farbduplexsonografie als das geeignete Verfahren bewährt. Ein weiterer Nachteil besteht in den hohen Anschaffungskosten.

8.2. Einflussgrößen auf die Messung der Autoregulation mit dem RVA und Provokationsfaktoren

Um mit dem RVA aussagekräftige Messergebnisse zu erzielen war es vor Beginn der Untersuchungen notwendig, bestimmte Standardbedingungen zu realisieren, um Störfaktoren zu minimieren und Fehlermöglichkeiten einzuschränken. Die genaue Anamneseerhebung war vor der Untersuchung ebenfalls von großer Bedeutung.

Vorerkrankungen

Für die Untersuchungen wurden gesunde Probanden ohne kardiovaskuläre Erkrankungen, arteriellen Hypertonus, Glaukom oder Diabetes mellitus ausgewählt.

Medikamenteneinnahme

Eine Medikamenteneinnahme wurde als Ausschlusskriterium (Ausnahme war die Einnahme oraler Kontrazeptiva) gewertet, da vor allem Blutdruck- und kreislaufwirksame Medikamente oder die Applikation von lokalen Ophthalmika die okuläre Hämodynamik verändert und die Messergebnisse damit beeinflussen kann.

Genussgifte

Mit dem RVA wurde bereits der vasokonstriktorische Einfluss von Nikotin auf die retinalen Gefäße nachgewiesen (Bachmann et al. 1998). Unter Nikotineinwirkung zeigte sich in einigen Studien eine Reduktion der okulären Blutflussgeschwindigkeit (Morgado et al. 1994). In der Literatur fand sich eine Studie zum Effekt von Koffein auf die menschliche Makulazirkulation (Lofti und Grunwald 1991). Untersuchungen mit dem RVA zur Einwirkung von Koffein auf die okuläre Mikrozirkulation lassen einen Einfluss vermuten, sind jedoch noch nicht abgeschlossen. Die Probanden hatten 4 Stunden vor der

Untersuchung daher weder Nikotin noch Kaffee konsumiert.

Intraokulärer Druck

Während der Messungen wurden Manipulationen am Bulbus durch Drücken oder Reiben vermieden. Vor und nach der Untersuchung wurde der intraokuläre Druck gemessen, der bei allen Probanden normwertig war und keine Veränderung aufwies. Der Nachweis, dass intraokuläre Druckveränderungen auf die Autoregulation der retinalen Gefäße wirken, wurde 1977 bereits geführt (Riva et al. 1977).

Blutdruck

Es ist bekannt, dass durch Applikation von pharmakologischen Substanzen oder eine isometrische Belastung ein Blutdruckanstieg mit Steigerung des MAP resultiert, der an den retinalen Gefäßen eine autoregulative, myogene Gefäßantwort hervorruft.

Eine Studie belegt eine Steigerung des Perfusionsdruckes in der Arteria ophthalmica bei Anstieg des systemischen Blutdruckes (Robinson et al. 1986).

Mit dem RVA konnte in mehreren veröffentlichten Studien an menschlichen retinalen Gefäßen von Normalprobanden und von Patienten mit Diabetes mellitus durch Steigerung des MAP eine signifikante Vasokonstriktion gemessen werden, die eine myogene Antwort der glatten Muskulatur darstellt. Der so genannte Bayliss-Effekt, d. h. die Reaktion der glatten Muskelzellen in der Gefäßwand auf Blutdruckanstieg, konnte erstmals am Menschen direkt, in vivo und nichtinvasiv nachgewiesen werden (Blum et al. 1999). Der Blutdruckanstieg wurde hierbei durch eine isometrische Belastung mit Halten einer 1,5 kg schweren Hantel provoziert. Im Vergleich mit Normalprobanden und Patienten mit Diabetes mellitus Typ I konnte durch das gleiche Untersuchungsverfahren eine schlechtere myogene Gefäßreaktion bei den Erkrankten nachgewiesen werden (Blum et al. 2000). Eine weitere Studie an 40 Patienten mit Diabetes mellitus und unterschiedlich schwer ausgeprägter

diabetischer Retinopathie zeigte eine zunehmende Verschlechterung der myogenen Gefäßantwort nach Blutdruckprovokation in Abhängigkeit der Schwere der diabetischen Retinopathie (Blum et al. 2001).

In der vorliegenden Arbeit kam es vor, während und nach der Inhalation von 100 % Sauerstoff mittels Manschettenmessung in minütlichen Abständen zu keiner signifikanten Blutdruckänderung.

Blutzuckerspiegel

Der Blutglukosespiegel kann ebenfalls als wesentliche Einflussgröße auf die retinale Autoregulation angesehen werden.

Bereits 1983 wurden Veränderungen der Autoregulation der retinalen Gefäße von diabetischen und gesunden Hunden unter Hyperglykämie beschrieben (Ernest et al. 1983).

Cipolla veröffentlichte 1997 eine Studie an Laborratten, bei denen eine hohe Blutzuckerkonzentration zu einer Reduktion des Gefäßtonus zerebraler Gefäße über einen endothelialen Mechanismus führte hatte (Cipolla et al. 1997).

An Patienten mit unzureichend eingestelltem Diabetes mellitus wurde mit Laser-Doppler-Technik eine deutliche Verschlechterung bis hin zu einem völligen Aufheben der retinalen Autoregulation beschrieben (Rassam et al. 1995).

Mit dem RVA konnte erstmals gezeigt werden, dass ein signifikanter Einfluss des aktuellen Blutzuckerspiegels auf die Autoregulation der retinalen Gefäße besteht. An einer gesunden Probandengruppe wurde eine Reduktion der myogenen Gefäßantwort auf Blutdruckerhöhung unter Hyperglykämie im Vergleich mit einer Gruppe ohne Hyperglykämie nachgewiesen (Brändel 2003).

In der vorliegenden Arbeit wurde darauf geachtet, dass die letzte Nahrungsaufnahme eine Stunde vor Messbeginn zurückliegen musste, um einen Einfluss des Blutglukosespiegels zu vermeiden. Probanden mit einem bekannten Diabetes mellitus wurden ausgeschlossen.

Lichtbelastung

In der Literatur wurde der Einfluss von Licht auf die Retina in Form einer messbaren hämodynamischen Reaktion der Augengefäße beschrieben (Tobis et al. 1998). Mit dem RVA wurde der Einfluss von Flickerlicht auf die arteriellen retinalen Gefäße im Sinne einer Dilatation nachgewiesen (Nagel und Vilser 2004). Im Vergleich von Normalprobanden und Patienten mit Diabetes mellitus konnte mit dem RVA und dem Einsatz von Flickerlicht eine signifikante Dilatation der Retinagefäße der gesunden Personen und keine Änderung der Gefäßweite an den Gefäßen der Erkrankten gezeigt werden (Garhöfer et al. 2004).

Durch die im Versuchsaufbau verwendete empfindliche Funduskamera konnte in der vorliegenden Arbeit die Lichtbelastung der Probanden gering gehalten werden, um eine Beeinflussung der autoregulativen Antworten zu vermeiden.

Geschlecht

In der Literatur fanden sich keine Studien, die einen Einfluss des Geschlechtes auf die okuläre Hämodynamik belegen. Auch die von Blum et al. durchgeführten Messungen mit dem RVA zeigen keine geschlechterabhängigen Unterschiede. Die Probanden wurden dennoch so ausgewählt, dass die Anzahl der männlichen und weiblichen Personen in den einzelnen Gruppen möglichst gleich gehalten wurde.

Alter

Es ist bekannt, dass es im Alter zu einer zunehmenden Beeinträchtigung der Funktionsfähigkeit des Auges kommt. Im Bereich der Netzhaut kommt es zu

einer fortschreitenden Degeneration des Pigmentepithels, zu einer Hyalinisierung der Bruch-Membran mit Zunahme der Membrandicke, zu einer Abnahme der choriokapillären Dichte, einer Abnahme der Choriokapillaris und der Choroidea (Ramrattan et al. 1994). Auch die Gefäße der Retina erfahren alterskorrelierte Veränderungen, die mit einer Verschlechterung der Mikrozirkulation einhergehen.

In der Literatur finden sich einige wenige Studien, in denen altersabhängige Veränderungen der okulären Hämodynamik untersucht wurden.

1993 wurde in einer Studie an Probanden im Alter von 20 bis 78 Jahren mit der „Blue field entopic“ Simulationstechnik eine deutlich signifikante Abnahme des retinalen makulären Blutflusses, besonders in der Gruppe der 50 bis 58jährigen, beobachtet (Grunwald et al. 1993).

In einer weiteren Studie konnte eine signifikante Abnahme der retinalen Mikrozirkulation und der Blutflussgeschwindigkeit in der retinalen Zentralarterie um 6 bis 11% pro Lebensdekade an 85 Patienten mittels Scanning Laser Doppler Flowmetrie und gepulster Dopplersonographie objektiviert werden. Die Mikrozirkulation im Sehnervenkopf unterlag in dieser Arbeit nicht einer altersabhängigen Veränderung. (Groh et al. 1996).

Ravalico et al. beschrieb 1996 die alterskorrelierten Veränderungen des okulären Blutflusses mit dem Langham Ocular-Blood-Flow (OBF)-System an einer Gruppe von 105 Probanden in einem Alter von 10 bis 80 Jahre. Mit zunehmendem Alter kommt es zu einer kontinuierlichen Abnahme des pulsatischen okulären Blutflusses, besonders nach dem 50. Lebensjahr in Rückenlage. Auch die okuläre Pulsamplitude erfährt in Abhängigkeit des Alters eine signifikante Abnahme. Eine Erklärung dafür wäre die verminderte Kapazität und Dehnbarkeit des choroidalen Gefäßnetzes und die Hyalinisierung der Arteriolen mit der Reduktion der Gefäßweite (Ravalico et al. 1996).

Eine weitere Studie beschreibt die altersabhängige Abnahme des choroidalen Blutflusses und des Blutvolumens an 29 Probanden im Alter von 15 bis 76 Jahren durch den Einsatz der Laser-Doppler-Flowmetrie (LDF). Signifikante Unterschiede wurden besonders zwischen der Gruppe der 15- bis 45jährigen und der Gruppe der 46- bis 76jährigen Probanden nachgewiesen (Grunwald et al. 1998).

Die in der vorliegenden Arbeit erhobenen Daten mit dem RVA weisen erstmals eine alterskorrelierte signifikante Abnahme der Kontraktilität retinaler Gefäße nach. Während bei jüngeren Probanden auf 100 % Sauerstoff eine sehr deutliche Vasokonstriktion eintritt, zeigen die Gefäße der älteren Personen eine signifikant abgeschwächte Reaktion. Dieses funktionelle Ergebnis passt zu den morphologischen Veränderungen, die bei zunehmendem Alter in Form der Arteriosklerose beschrieben werden. Die Altersabhängigkeit der Gefäßreaktion muss bei klinischem Einsatz des Provokationsverfahrens mit Atemgasinhalationen an Patienten berücksichtigt werden, da ansonsten Fehlinterpretationen der Messergebnisse auftreten.

8.2.1. Die Atemgasinhalation als Provokationsverfahren zur Messung der Autoregulation retinaler Gefäße

Um die Autoregulation der retinalen Gefäße zu messen, wurden bereits viele Versuche unter Verwendung von veränderten Atemgasgemischen durchgeführt. In den folgenden Ausführungen soll auf die bereits durchgeführten Provokationsuntersuchungen mit Atemgasgemischen, insbesondere mit Sauerstoff, zur Messung der Autoregulation der retinalen Arterien im Vergleich zu den Messergebnissen mit dem RVA eingegangen werden.

Wie bereits erwähnt, wurden erstmals 1964 von Frayser und Hickam durch Inhalation von Sauerstoff und Sauerstoff-Kohlendioxid-Gemischen (10 % CO₂

und 21 % O₂ und 69 % N₂; 10 % CO₂ und 90 % O₂) die Autoregulation der retinalen Arterien und Venen nachgewiesen. Dabei zeigte sich unter Verwendung von Fundusfotografien unter Sauerstoffinhalation bei 10 Probanden eine signifikante arterielle Vasokonstriktion der von 12 % (+/-6). Unter Verwendung der Atemgasgemische stellte sich keine signifikante Veränderung der Gefäßweite dar (Frayser und Hickam 1964).

An 6 Probanden konnte mittels Fundusfotografien und Injektion von Fluoreszein unter Einsatz von hyperbaren Sauerstoff eine signifikante arterielle Vasokonstriktion objektiviert werden, bei 2,3 atm ließ sich eine Vasokonstriktion von 26,9 %, bei 3,7 atm eine Vasokonstriktion von 25,9 % messen (Frayser et al. 1967).

In einer weiteren Studie konnte mittels monochromatischer Fundusfotographie an 5 Probanden nach 100 % Sauerstoff eine Vasokonstriktion der retinalen Arterien und Venen um 12 % bestimmt werden (Riva et al. 1983).

1993 wurde anhand der monochromatischen Fundusfotografie der vasokonstriktorische Effekt von 100 % Sauerstoff auf retinale Venen mit dem von Carbogen verglichen (Pakola und Grunwald 1993). Es konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Die retinalen Arterien wurden nicht untersucht, so dass auf die Untersuchung nicht weiter eingegangen wird.

Eine wesentliche Weiterentwicklung stellte die Einführung der Fluoreszeinangiografie in Kombination mit der Atemgas-Provokation dar.

Deutsch et al. untersuchte mit der Videoangiografie 3 Probanden unter Verwendung von 100 % Sauerstoff und wies eine signifikante arterielle Vasokonstriktion von 9,4 % nach. Die Inhalation von Carbogen (5 % CO₂ und 95 % O₂) ergab ebenfalls eine arterielle Verengung von 8,9 % (Deutsch et al. 1983).

Mit der Scanning Laser Ophthalmoskopie (SLO) konnte unter Verwendung des Atemgasgemisches Carbogen an 28 Probanden (6 % CO₂ und 94 % O₂) keine

statistisch signifikante Änderung der Gefäßweite retinaler Arterien nachgewiesen werden (Arend et al. 1994).

Mit der Farbduplexsonografie wurde nach Einatmung von 100 % Sauerstoff ein signifikanter Anstieg des peripheren Widerstandes in der Arteria centralis retinae und in der Arteria ophthalmica, d. h. eine Veränderung im Rahmen einer Vasokonstriktion nachgewiesen. Nach Einatmung eines Gemisches von 92 % Sauerstoff und 8 % Kohlendioxid ließ sich dagegen eine signifikante Abnahme des Gefäßwiderstandes, d. h. eine Vasodilatation in den beiden Gefäßen nachweisen. Die Inhalation des Atemgasgemisches mit 95 % Sauerstoff und 5 % CO₂ (Carbogen) ergab keine signifikante Änderung des Gefäßwiderstandes (Schüttauf et al. 1998).

Vergleicht man die bisher publizierten Studien zu Veränderungen retinaler Gefäßdurchmesser unter Sauerstoff- und Carbogeninhalation mit den Daten der vorliegenden Arbeit, fallen die großen methodischen Unterschiede auf. Während einige Studien Fundusfotografien zum Teil mit Anhebung des Kontrastes im monochromatischen Licht benutzten, verwenden andere digitalisierte Sequenzen aus invasiven Fluoreszenzangiografien, um die Gefäßdurchmesser ermitteln zu können. Allen Studien gemeinsam ist eine deutlich geringere Anzahl von Einzelmesswerten bei sehr geringer Zahl von Probanden als beim RVA. Eine alterskorrelierte Darstellung ist mit keinem der bisherigen Verfahren durchgeführt worden.

Aufgrund der fehlenden alterskorrelierten Auswertung der Ergebnisse der anderen Studien lässt sich die Höhe der maximalen Vasokonstriktion mit den vorliegenden Daten nicht vergleichen.

Mit dem RVA konnte erstmals auch die Dynamik der Gefäßweitenveränderungen während der gesamten Provokationsdauer nachgewiesen werden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass mit dem RVA unter Sauerstoffatmung

als auch unter Carbogenatmung (Lang et al. 1998) signifikante Gefäßweitenänderungen auslösen und messen lassen.

Aufgrund der nicht-invasiven, einfach durchzuführenden Methode mit geringer Belastung des Probanden bzw. Patienten und der gesicherten Reaktion der Gefäße, kann das Verfahren als eine Alternative zur Provokation durch Blutdrucksteigerung eingesetzt werden.

Durch die Atemgasprovokation ist eine direkte Testung der myogenen Antwort der Autoregulation nicht möglich.

Alle Steuerungsmechanismen der autoregulativen Veränderungen greifen in einem komplexen Netzwerk ineinander und können auch gegenläufig aktiv sein. Ein komplexes Zusammenspiel von physikalischen und metabolischen Faktoren ist anzunehmen.

8.3. Steuerungsmechanismen der retinalen Autoregulation

Die myogene und die metabolische Komponente der Autoregulation konnte anhand des RVA nichtinvasiv und in vivo nachgewiesen werden. Der Einfluss der myogenen Komponente gilt als gesichert und konnte mit dem RVA durch die Blutdruckprovokation objektiviert werden (Blum et al. 1999).

Eine Beeinflussung der Autoregulation durch eine metabolische Komponente könnte durch die Veränderungen durch die Atemgasprovokation und durch die Lichtbelastung nach Dunkeladaptation (Tobis et al. 1998) erklärbar sein. Diese Reaktionen ließen sich ebenfalls mit dem RVA sichern.

Wie bereits ausgeführt, kommt es durch den Anstieg des Sauerstoffpartialdruckes zu einer Vasokonstriktion der retinalen Gefäße durch die Hyperoxie, während ein Anstieg des PCO_2 durch eine Hyperkapnie eine Vasodilatation hervorruft (Lang et al. 1998), wie es bereits bei den zerebralen

Gefäßen bekannt ist. Ein Erklärungsansatz könnte die Verschiebung des pH-Wertes sein (Chen und Anderson 1997). Auch eine relaxierende Wirkung des PCO_2 auf die Perizyten wurde angenommen (Anderson et al. 1996).

Eine neuronale Steuerung der Autoregulation ist aufgrund der fehlenden sympathischen Innervation der Netzhautgefäße unwahrscheinlich.

Der Einfluss von vasoaktiven Substanzen durch das Endothel gewinnt in der Literatur zunehmend an Bedeutung. Da die Netzhautgefäße keine präkapillären Sphinktere besitzen, sind die Perizyten in der Gefäßwand für die Gefäßweite und damit den Blutfluss verantwortlich.

Als gesichert wirksame vasodilatatorische Substanzen gelten Stickoxid (NO) (Haeffliger et al. 1992) und auch Prostaglandine (Pournaras und Tsacopoulos 1990). Das stark vasodilatatorisch wirksame Stickoxid wird durch strömungsbedingte Scherkräfte oder vasoaktive Faktoren (z. B. Bradykinin und Acetylcholin) freigesetzt.

Als gefäßverengende Substanzen spielen das Endothelin und das aus dem Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) stammende Oktapeptid Angiotensin II (Weinreb et al. 1985, Wagner et al. 1996) eine Rolle. Die Wirkung des Endothelins auf die Perizyten (Haeffliger et al. 1992) und auf die okulären Gefäße (Chakravarthy et al. 1998) wurde durch Studien belegt.

9. Schlussfolgerungen

Die bisherigen Ergebnisse der Untersuchungsverfahren zur Messung der Autoregulation der retinalen Gefäße durch eine Provokation mit Atemgasgemischen, insbesondere Sauerstoff, berücksichtigten bisher nicht das Alter der Probanden. Durch die mit dem Retinal Vessel Analyzer durchgeführten Untersuchungen konnten erstmals eine alterskorrelierte Verlagerung der Gefäßreaktion bei Provokation mit 100 % Sauerstoff im Sinne einer signifikanten Abnahme der Gefäßkontraktilität nachgewiesen und daraufhin Normwerte erstellt werden.

Mit dem RVA steht erstmals ein nichtinvasives Gerät zur Vermessung retinaler Gefäßdurchmesser in vivo in hoher Präzision zur Verfügung. Das Verfahren der Sauerstoffatmung ist ein unkompliziertes, wenig belastbares und zuverlässiges Provokationsverfahren. Ziel ist es, das Untersuchungsverfahren zur Messung von Gefäßregulationskapazitäten am Menschen, z. B. zur Untersuchung der Funktion von retinalen Arteriolen bei pathologischen Prozessen wie Diabetes mellitus oder arterieller Hypertonus, auch klinisch einzusetzen. Um dabei Fehlinterpretationen der Messwerte zu vermeiden, war die Erstellung der „Normwertkurve“ an gesunden Probanden, von großer Bedeutung.

Im Hinblick auf die erhobenen Daten sollten auch andere Verfahren zur Messung von Durchblutungsparametern auf eine alterskorrelierte Normwertkurve überprüft werden.

10. Literatur- und Quellenverzeichnis

- Alm A, Bill A. 1987. Ocular circulation. In: Adler's Physiology of the Eye: Clinical Application. Moses RA und Hart WM, Hrsg. St. Louis: Mosby, 183-203.
- Amberson D, Bhandari A, Bacon DR, Van Bursirk EM, Cioffi GA. 1997. Comparison of Heidelberg Retina Flowmeter data with optic nerve vaskular anatomy in rabbits and rhesus monkey. Invest Ophthalmol Vis Sci 38:S275.
- Anderson DR, Davis EB. 1996. Glaucoma, capillaries and pericytes. 5. Preliminary evidence that carbon dioxide relaxes pericyte contractile tone. Ophthalmologica 210:280-284.
- Arend O, Harris A, Martin BJ, Holin M, Wolf S. 1994. Retinal blood velocities during carbogen breathing using scanning laser ophthalmoscopy. Acta Ophthalmol 72:332-336.
- Ashton N, de Oliveira F. 1966. Nomenclature of pericytes intramural and extramural. Br J Ophthalmol 50:119-123.
- Bachmann K, Blum M, Brändel C, Scherf C, Vilser W, Strobel J. 1998. Der Einfluss von Rauchen auf die retinale Mikrozirkulation. Ophthalmologe 95:S143.
- Bayliss WM. 1902. On the local reactions of the retinal wall to changes of internal pressure. J Phys 28:220-231.
- Behrendt T. 1966. Scanning densitometer for photographic fundus measurements. Am J Ophthalmol 62:689-693.

- Bettmann J, Fellows VA. 1956. Technique for the determination of blood volume changes in choroid and retina by use of radioactive phosphorus. *Am J Ophthalmol* 42:161-166.
- Blum M, Bachmann K, Pietscher S, Bräuer-Burchardt C, Vilser W, Strobel J. 1997. Online-Messung retinaler Arterienäste bei Typ-II-Diabetikern. *Ophthalmologie* 94:724-727.
- Blum M, Bachmann K, Wintzer D, Riemer Th, Vilser W, Strobel J. 1999. Noninvasive measurement of the Bayliss-effect in retinal autoregulation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 237:296-300.
- Blum M, Kubetschka U, Hunger-Dathe W, Bachmann K, Müller UA, Strobel J. 2000. Autoregulation retinaler Arteriolen bei Patienten mit Diabetes mellitus und Normalprobanden. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 216:40-44.
- Blum M, Bachmann K, Strobel J. 2000. Age-correlation of blood ressure induced myogenic autoregulation of human retinal arterioles in 40 volunteers. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 217:225-230.
- Blum M, Pils C, Bachmann K, Kubetschka K, Strobel J. 2001. Myogen response of human retinal arterioles in Diabetic Retinopathy (abstract). *Invest Ophtalmol Vis Sci* 42, NO. 4, ARVO, Abstract Issue 87; Abstract: 480.
- Bohr DF, Somlyo AP, Sparks HV. 1980. *Handbook of Physiology. Section 2: The cardiovascular system. Vol. II vascular smooth muscle.* Am Physio Soc. Bethesda, Maryland.
- Brändel C. 2003. Einfluss des Blutglukosespiegels auf die myogene Autoregulation retinaler Arteriolen am Menschen (Dissertation). Jena: Friedrich-Schiller-Universität.

- Bulpitt CJ, Dollery CT, Kohner EM. 1970. The marginal plasma zone in the retinal microcirculation. *Cardiovasc Res* 4:207.
- Chakravarthy U, Hayes RG, Stitt AW, McAuley E, Archer DB. 1998. Constitutive nitric oxide synthase expression in retinal vascular endothelial cells is suppressed by high glucose and advanced glycation end products. *Diabetes* 47:945-952.
- Chen Q, Anderson DR. 1997. Effect of CO₂ on intracellular pH and on contraction of retinal capillary pericytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:643-651.
- Cipolla MJ, Porter JM, Osol G. 1997. High glucose concentrations dilate cerebral arteries and diminish myogenic tone through an endothelial mechanism. *Stroke* 28:405-411.
- Cuypers MH, Kasanardjo JS, Polak BC. 2000. Retinal blood flow changes in diabetic retinopathy measured with the Heidelberg scanning laser Doppler flowmeter. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 238:935-941.
- Delori FC, Fitch KA, Feke GT, Deupree DM, Weiter JJ. 1988. Evaluation of micrometric and microdensitometric methods for measuring the width of retinal vessel image on fundus photographs. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 226:393-399.
- Deutsch TA, Read JS, Ernest JT, Goldstick TK. 1983. Effects of oxygen and carbon dioxide on the retinal vasculature in humans. *Arch Ophthalmol* 101:1278-1280.
- Dumskyj MJ, Eriksen JE, Doré CJ, Kohner EM. 1996. Autoregulation in human retinal circulation: Assessment using isometric exercise, Laser-Doppler velocimetry, and computer-assisted image analysis. *Microvas Res* 51:378-392.

- Eberli B, Riva CE, Feke GT. 1979. Mean circulation time of fluorescein in retinal vascular segments. Arch Ophthalmol 97:145-148.
- Ernest JT, Goldstick TK, Engerman RL. 1983. Hyperglycemia impairs retinal oxygen autoregulation in normal and diabetic dogs. Invest Ophthalmol Vis Sci 24:985-989.
- Frayser R, Hickam JB. 1964. Retinal vascular response to breathing increased carbon dioxide and oxygen concentrations. Invest Ophthalmol Vis Sci 3:427-431.
- Frayser R, Saltzman HA, Anderson B, Hickam JB, Sieker HO. 1967. The effect of hyperbaric oxygenation on retinal circulation. Arch Ophthalmol 77:265-269.
- Frick H, Leonhardt H, Starck D. 1987. Das Auge. In: Taschenatlas der Anatomie in drei Bänden. Stuttgart: Thieme-Verlag, 317.
- Friedman E, Smith TR, Kuwabara T. 1964. Retinal microcirculation in vivo. Invest Ophthalmol Vis Sci 3:217-226.
- Funk J, Muller-Velten R, Neß T. 2000. Retinale Blutflussmessung mit dem Heidelberg Retina Flowmeter: Reproduzierbarkeit und Effekt von Timolol. Klin Monatsbl Augenheilkd 217:263-268.
- Funk RHW. 1995. Die Anatomie und Physiologie der Blutversorgung des Auges. Durchblutungsstörungen am Auge. Bücherei des Augenarztes, Band 134. Stuttgart: Enke Verlag, 1-14.
- Gaetgens P. 1994. Das Kreislaufsystem. In: Klinke R und Silbernagl S, Hrsg. Lehrbuch der Physiologie. Erste Aufl. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.

- Gaethgens P. 1980. Flow of blood through narrow capillaries. *Biorheology* 17: 183-189.
- Garhöfer G, Zawinka C, Resch H, Kothy P, Schmetterer L, Dorner GT. 2004. Reduced response of retinal vessel diameters to flicker stimulation in patients with diabetes. *Br J Ophthalmol* 88:887-891.
- Gilmore JP, Cornish KG, Rogers SD, Joyner WL. 1980. Direct evidence for myogenic autoregulation of the renal microcirculation in the hamster. *Circ Res* 47:226-230.
- Green GJ, Feke GT, Goger DG, McMeel JW. 1983. Clinical application of the Laser Doppler technique for retinal blood flow studies. *Arch Ophthalmol* 101:971-974.
- Groh MJ, Michelson G, Langhans MJ, Harazny J. 1996. Influence of age on retinal and optic nerve head blood circulation. *Ophthalmology*.103:529-34.
- Grunwald JE, Hariprasad SM, DuPont J. 1998. Effect of aging on foveolar choroidal circulation. *Arch Ophthalmol* 116:150-154.
- Grunwald JE, Piltz J, Patel N, Bose S, Riva CE. 1993. Effect of aging on retinal macular microcirculation: a blue field simulation study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34:3609-3613.
- Guthoff RF, Berger RW, Winkler PW, Helmke K, Chumbley LC. 1991. Doppler ultrasonography of the ophthalmic and central retinal vessels. *Arch Ophthalmol* 109:532-536.
- Haeflinger IO, Flammer J, Lüscher TF. 1992. Nitric oxide and endothelin-1 are important regulators of human ophthalmic artery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 33:2340-2343.

- Haessler FH, Squier TL. 1931. Measurements of retinal vessels in early hypertension. *Trans Am Ophthalmol Soc* 29:254-262.
- Harris A, Arendt O, Wolf S, Cantor LB, Martin BJ. 1995. CO₂ dependence of retinal arterial and capillary blood velocity. *Acta Ophthalmol* 73:421-424.
- Harris A, Kageman L, Evans DE, Chung HS, Cantor LB, Garrett M. 1997. A new method for evaluating ocular blood flow in glaucoma: pointwise flow analysis of HRF images. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:S439.
- Hickam JB, Frayser R, Ross J. 1963. A study of retinal venous blood oxygen saturation in human subjects by photographic means. *Circulation* 27:375-385.
- Hickam JB, Frayser R. 1966. Studies of the retinal circulation in man. *Circulation* 33:302-316.
- Hickam JB, Frayser R. 1965. A photographic method for measuring the mean retinal circulation time using fluorescein. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 4:876-884.
- Hodge JV, Parr JC, Spears GFS. 1969. Comparison of method of measuring vessel widths on retinal photographs and the effect of fluorescein injection on apparent retinal vessel caliber. *Am J Ophthalmol* 68:1060-1068.
- Howe L. 1887. Photography of the interior of the eye. *Tr Am Ophthalmol Soc* 4:568-571.
- Johnson PC. 1968. Autoregulatory responses of cat mesenteric arterioles measured in vivo. *Circ Res* 22:199-212.

- Kergoat H, Faucher C. 1999. Effects of oxygen and carbogen breathing on choroidal hemodynamics in humans. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 40:2906-2911.
- Kuschinsky W. 1992. Herz-Kreislauffunktion. In: Deetjen P und Speckmann EJ, Hrsg. *Physiologie*. 1. Aufl. München, Wien, Baltimore: Urban und Schwarzenberg.
- Kuwabara T, Cogan DG. 1963. Retinal vascular patterns. *Arch Ophthalmol* 69:492-502.
- Lang GE, Harris A, Vilser W, Tobis M, Kageman L, Riemer Th, Lang GK. 1998. A new method analyzing retinal vessel diameter sensitive to small CO₂ changes (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39:S268.
- Langham ME, Eisenlohr JE. 1963. A manometric study of the rate of fall of the intraocular pressure in living and dead eyes of human subjects. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2:72-82.
- Langham ME, Farrel RA, O'Brian V, Silver DM, Schilder P. 1989. Blood flow in the human eye. *Acta Ophthalmol* 67:S9-S13.
- Latie AM. 1967. Central retinal artery innervation. Absence of adrenergic innervation to intraocular branches. *Arch Ophthalmol* 77:405-409.
- Leber T. 1865. Über den Verlauf und Zusammenhang der Gefäße am menschlichen Auge. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 11:1-57.
- Leber T. 1903. Cirkulations- und Ernährungsverhältnisse des Auges. In Graefe A und Saemisch T: *Handbuch der gesamten Augenheilkunde*. Leipzig: Springer Verlag.

- Lieb WE, Cohen SM, Merton DA, Shields JA, Mitchell DG, Goldberg BB. 1991. Color Doppler imaging of the eye and orbit: Technique and normal vascular anatomy. *Arch Ophthalmol* 109:527-531.
- Lietz A, Hendrickson P, Flammer J, Orgül S, Haefliger IO. 1998. Effect of carbogen, oxygen and intraocular pressure on Heidelberg retina flowmeter parameter 'flow' measured at the papilla. *Ophthalmologica* 212:149-152.
- Lotfi K, Grunwald JE. 1991. The effect of caffeine on the human macular circulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 32:3028-3032.
- Matusuo N. 1973. Scanning electron microscopic studies on corrosion casts of the blood vessels of the ciliary body. *Acta Soc Ophthalmol Jap* 77:928-935.
- Meves H. 1948. Zur Struktur der Netzhautarterien. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 148:459-467.
- Michelson G, Groh M, Langhans M, Schmauß B. 1995. Zweidimensionale Kartierung der retinalen und papillären Mikrozirkulation mittels Scanning-Laser-Doppler-Flowmetrie. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 207:180-190.
- Morff RJ, Granger HJ. 1982. Autoregulation of blood flow within individual arterioles in the rat cremaster muscle. *Circ Res* 51:43-55.
- Morgado, PB, Chen HC, Patel V, Herbert L, Kohner EM. 1994. The acute effect of smoking on retinal blood flow in subjects with and without diabetes. *Ophthalmology* 101:1220-1226.
- Nagel E, Vilser W. 2004. Flicker observation light induces diameter response in retinal arterioles: a clinical methodological study. *Br J Ophthalmol* 88:54-56.

- Naumann GOH, Ruprecht KW. 1997. Diabetes mellitus. Naumann GOH: Pathologie des Auges. Band II, 2. Auflage. Berlin Heidelberg New York: Springer Verlag.
- Nicolela MT, Hnik P, Drance SM. 1997. Ocular blood flow measured with scanning laser Doppler flowmeter in normals and glaucoma patients. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:S276.
- Niesel P, Gassman HB. 1972. Direkte fluorometrische Untersuchung am Augenhintergrund. *Ophthalmologica* 165:297-302.
- Nordenson JW. 1915. Om centrisk fotografering av övonbotten. *Hygiea* 77:1538-1552.
- Novotny HR, Alvis DL. 1961. A method of photographing fluorescence in circulation blood in the human retina. *Circulation* 24:82-86.
- O'Day DM, Fish MB, Aronson SB, Pollcove M, Coon A. 1971. Ocular blood flow measurements by nuclide labelled microspheres. *Arch Ophthalmol* 86:205-209.
- Pakola SJ, Grunwald JE. 1993. Effects of oxygen and carbon dioxide on human retinal circulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34:2866-2870.
- Paulson OB, Strandgaard S, Edvinsson L. 1990. Cerebral Autoregulation. *Cerebrovasc Brain Metab Rev* 2:161-192.
- Polak K, Dorner G, Kiss B, Polska E, Eichler HG, Schmetterer L. 2000. Evaluation of the Zeiss retinal vessel analyzer. *Br J Ophthalmol* 84:1285-1290.

- Pournaras CJ, Tsacopoulos M. 1990. The role of of prostaglandins in the regulation of the retinal blood flow (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31:S169.
- Preußner PR, Richard G, Darrelmann O, Weber J, Kreissig I. 1983. Quantitative measurement of retinal blood flow in human beings by application of digital image-processing methods to television fluorescein angiograms. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 221:110-112.
- Ramrattan RS, van der Schaft TL, Mooy CM, de Bruijn WC, Mulder PG, deJong PT. 1994. Morphometric analysis of Bruch's membrane, the choriocapillaris and the choroid in aging. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35:2857-2864.
- Rassam SMB, Patel V, Kohner EM. 1995. The effect of experimental hypertension on retinal vascular autoregulation in humans: a mechanism for the progression of diabetic retinopathy. *Exp Physiol* 80:53-68.
- Ravalico G, Toffoli G, Pastori G, Crocè M, Calderini S. 1996. Age-related ocular blood flow changes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37:2645-2650.
- Riva CE, Fekke GT, Ben-Sira I. 1978. Fluorescein eye-dilution technique and retinal circulation. *Am J Physiol* 234:315-322.
- Riva CE, Grunwald JE, Petrig B. 1986. Autoregulation of human retinal blood flow: an investigation with Laser-Doppler-Velocimetry. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27:1706-1712.
- Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH, Petrig BL. 1985. Blood velocity and volumetric flow rate in human retinal vessels. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 26:1124-1132.

- Riva CE, Grunwald JE, Sinclair SH. 1983. Laser Doppler velocimetry of the effect of pure oxygen breathing on retinal blood flow. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24:47-51.
- Riva CE, Harino S, Petrig BL, Shonat RD. 1992. Laser Doppler flowmetry in the optic nerve. *Exp Eye Res* 55:499-506.
- Riva CE, Petrig B. 1980. Blue field entoptic phenomenon and speed of blood in retinal capillaries of the human eye. *J Opt Soc Am* 70:1234-1238.
- Riva CE, Sinclair SH, Grunwald JE. 1977. Autoregulation of retinal circulation in response to decrease of perfusion pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 21:34-38.
- Robinson F, Riva CE, Grunwald JE, Petrig BL, Sinclair SH. 1986. Retinal blood flow autoregulation in response to acute increase in blood pressure. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 27:722-726.
- Rohen JW. 1964. Das Auge und seine Hilfsorgane. *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Band III/4: Bau- und Entwicklungsprinzipien*. Springer Verlag, Berlin Göttingen Heidelberg New York.
- Sachsenweger M, Hrsg. 1994. *Augenheilkunde*. Stuttgart: Hippokrates-Verlag.
- Schütttauf F, Cobet U, Klemenz A, Krause A. 1998. Duplexsonografische Untersuchungen zur retinalen Durchblutung nach Inhalation verschiedener Atemgasgemische. *Ophthalmologie* 95:225-228.
- Seifert BU, Vilser W. 2002. Retinal Vessel Analyzer (RVA) - Design and Function. *Biomed Tech* Vol 47:732-735.
- Sorsby A. 1939. Vital staining of the retina. *Br J Ophthalmol* 23:20-27.

- Spraul CW, Lang GE, Ronan M, Pillunat LE, Högel J, Lang GK. 1995. Reliability of measurements with a new slit lamp mounted ocular blood flow tonograph. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 26:436.
- Suzuki Y. 1995. Direct measurement of retinal vessel diameter: comparison with microdensitometric methods based on fundus photographs. *Surv Ophthalmol* 39:S57-S65.
- Tobis M, Vilser W, Lang GE, Riemer T, Lang GK. 1998. Influence of illumination on measurements of retinal vessel diameters (abstract). *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39:S995.
- Ulrich WD, Ulrich CH. 1985. Okulooszillodynamographie, ein neues Verfahren zur Bestimmung des Ophthalmikablutdruckes und zur okulären Pulscurvenanalyse. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 186:385-388.
- Vilser W, Riemer Th, Münch K, Kleen W, Strobel J. 1996. Automatic online measurements of retinal vessel diameters. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37:S266.
- Wagner J, Danser AHJ, Derkx FHM, de Jong PTVM, Paul M, Mullins JJ, Schalekamp MADH, Ganten D. 1996. Demonstration of renin mRNA, angiotensinogen mRNA, and angiotensin converting enzyme mRNA expression in the human eye: evidence for an intraocular renin-angiotensin system. *Br J Ophthalmol* 80:159-163.
- Weinreb RN, Sandman R, Ryder MI, Friberg TR. 1985. Angiotensin converting enzyme activity in human aqueous humor. *Arch Ophthalmol* 103:34-36.
- Wolf S, Arend O, Reim M. 1994. Measurement of retinal hemodynamics with scanning laser ophthalmoscopy: Reference values and variation. *Surv Ophthalmol* 38:S95-S100.

Wolf S, Arend O, Toonen H, Bertram B, Jung F, Reim M. 1991. Retinal capillary blood flow measurement with scanning laser ophthalmoscope. *Ophthalmology* 98:996-1000.

Zahn RK. 1990. Alter und Altern. In: Schmidt RF und Thews G, Hrsg. *Physiologie des Menschen*. 24. Aufl. Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo: Springer Verlag.

11. Anhang

11.1. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Privatdozent Dr. med. M. Blum, der diese Arbeit jederzeit tatkräftig unterstützte.

Mein größter Dank richtet sich an meine Eltern, die mein Interesse für die Medizin weckten und mich stets auf meinem Lebensweg unterstützend begleiteten.

Ich danke meinem Freund Dirk für sein Verständnis um meine Arbeit und seine Liebe, die mir bisher in jeder Lebenslage Kraft gab.

Weiterhin bedanke ich mich bei Dr. med. U. Kubetschka und Dr. med. C. Brändel für die Einweisung in die Geräte.

11.2. Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

- mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist,
- ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,
- mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Herr Privatdozent Dr. med. M. Blum als mein Doktorvater und betreuender Hochschullehrer, Chefarzt der Augenklinik am HELIOS-Klinikum Erfurt,

Dr. med. C. Brändel, Assistenzarzt an der Kinderklinik in Magdeburg und Dr. med. U. Kubetschka, Assistenzarzt an der Augenklinik in Jena, bei der Geräteeinweisung am RVA und in die Auswertungsprogramme,

- die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen habe,
- Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen
- und ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Erfurt, am 24. August 2004

Constance Scherf, Verfasserin